

**MINISTERIO DE EDUCACIÓN
FACULTAD DE TECNOLOGÍA DE LA SALUD
LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS CLÍNICO**

FOLLETO DE GENERALIDADES DE LABORATORIO.

**Autores: MSc. Ada Acevedo González.
Lic. Raúl Martínez Bernardo.**

**ENERO 2014.
“AÑO 56 DE LA REVOLUCIÓN”**

Tema 1: Principios básicos para el trabajo en los laboratorios.

Lugar que ocupa el laboratorio en las ciencias médicas.

El Laboratorio ocupa un lugar importante en las Ciencias Médicas donde se obtienen datos cualitativos y cuantitativos que al interpretarlos contribuyen a establecer el diagnóstico y guiar el tratamiento, o sea, el Laboratorio proporciona datos acerca de las diferentes muestras biológicas que ayudan a la prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades.

Todos los laboratorios tienen una estructura organizativa y administrativa, dependiendo del grado de complejidad del Centro Asistencial donde se encuentren ubicados, así como la cantidad de servicios que presten, la cantidad de pacientes a atender y el nivel técnico del personal.

El Sistema Nacional de Salud, en nuestro país, cuenta con tres niveles de atención: primario (policlínicos, centros municipales de higiene y epidemiología, centros de extracciones), secundario (hospitales) y terciario (institutos y centros de investigación).

Papel del bioanalista clínico en la función de salud.

Bio: Procedente del griego bios que significa: vida, biología, bioelemento, etc.

Análisis: Examen químico o bacteriológico de los humores, secreciones o tejidos del organismo: análisis de sangre, análisis citológico, etc

Distinción o separación de las partes de un todo hasta llegar a conocer los principios o elementos que lo configuran.

CLINICO: Relación con la parte práctica de la medicina o con un hospital.

Pertenece o relativo a la clínica, enseñanza práctica de la medicina.

Es de primordial importancia la formación de este profesional, con adecuado dominio de las ciencias y técnicas, elevada moral profesional y social que le permitirá identificar sus deberes para con el individuo enfermo y con la Sociedad en su conjunto, así como la prevención, el diagnóstico, el seguimiento y tratamiento de enfermedades transmisibles (VIH, HEPATITIS, CITOMEGALOVIRUS, ENFERMEDADES GONOCOCCICAS, ETC) y no (IMA, HTA, DIABETES MELLITUS, ASMA BRONQUIAL, ETC).

PROCESO SALUD – ENFERMEDAD:

La SALUD y la ENFERMEDAD es un estado que existe en un sujeto o población, es un equilibrio biológico y psíquico que en dependencia de si está en armonía o afectado, pueden ser definidas de muchas maneras:

- La OMS define a la SALUD como el estado de completo bienestar, físico, mental y social y NO solamente como la ausencia de afecciones o enfermedades.
- Otros autores (como el higienista ruso B. D. Petrakov) definen el completo bienestar psíquico- social en equilibrio total con el medio.
- El Diccionario de la Real Academia Española define como el estado en que el ser orgánico ejerce normalmente todas sus funciones. Condiciones físicas en que se encuentra un organismo en un momento determinado.

En nuestro país la definición más aceptada de este proceso es:

La salud o enfermedad están determinadas por el equilibrio del individuo con la comunidad y su medio ambiente, en función del grado de y posibilidades de realización, que alcanza la vida en un lugar y época determinada.

TIPOS DE LABORATORIOS:

Construcciones edificadas especialmente para la realización de experimentos, investigaciones científicas o análisis de diferentes muestras biológicas, así como para la producción de medicamentos, reactivos, etc.

La Norma ISO 15189, define como laboratorio clínico al “laboratorio para análisis biológico, microbiológico, químico, citológico, patológico u otras especialidades médicas”

Como parte del Sistema Nacional de Salud (SNS) en Cuba se dividen en diferentes tipos de Laboratorios, con diferentes funciones y estructura según su ubicación en alguno de los tres niveles de atención

➤ **LABORATORIO CLÍNICO:**

Tiene como actividad básica recibir las órdenes emitidas por los médicos de asistencia, recepción y toma de muestras biológicas como: sangre, orina, LCR, etc, a los que se les realizan estudios bioquímicos, hematológicos, serológicos, etc, para establecer sus alteraciones teniendo en cuenta los valores normales de referencia.

➤ **MICROBIOLOGÍA:**

A partir de indicaciones médicas, recibe y toma muestras biológicas realizando investigaciones mediante exámenes microscópicos directos, por cultivo, serológicos y de biología molecular, con el objetivo de identificar agentes causales de infecciones.

➤ **MEDICINA TRANSFUSIONAL:**

Recibe solicitudes médicas, toma y recibe muestras biológicas (sangre, plasma, suero), realiza sangría a los donantes de sangre con sus respectivas determinaciones inmunohematológicas y serológicas e informe de los resultados.

Obtiene y procesa los componentes sanguíneos para su uso terapéutico o productivo posteriormente, administra sangre y hemocomponentes, según indicación, a los pacientes necesitados, cumplimentando el protocolo de trabajo para este fin.

➤ **HISTOPATOLOGÍA O CITOHISTOPATOLOGÍA:**

La toma de muestra se puede realizar en Salón de operaciones (piezas quirúrgicas), salas (esputo, orina), consultas especializadas (BAAF para detectar lesiones benignas o malignas en cualquier lugar del cuerpo) (mamas, ganglios, tiroides) o en la morgue (no sólo del fallecido, también del paciente) .

RECURSOS HUMANOS EN LOS LABORATORIOS:

Están compuesto por diferentes profesionales: médicos especialistas de primer y segunda grado, licenciados en tecnología de la salud y otros como: bioquímicos, biólogos, etc.

También por técnicos medios, personal de oficina y auxiliares de laboratorio (previamente capacitados)

CONTENIDO DE TRABAJO DE PROFESIONALES Y TÉCNICOS:

El trabajo debe ser jerarquizado por un Jefe de Servicio, que será un médico especialista o en su defecto otro profesional a fin.

Cada sección debe tener un responsable, que será un profesional o técnico experimentado.

En la mayoría de nuestros Laboratorios existe un técnico especialista principal quien desempeña las funciones de Jefe Técnico, asumiendo funciones delegadas por el Jefe

del Servicio. (Control de personal, rotaciones por las diferentes secciones, programación de guardias, etc)

SITUACION ACTUAL Y USO RACIONAL:

Debido al desarrollo de nuevas enfermedades se ha hecho necesaria una demanda creciente de las investigaciones de laboratorio, fundamentalmente para confirmación de diagnósticos, creándose una compleja situación, por el monopolio de las firmas que manipulan los diferentes medios a utilizar, siendo necesario hacer un uso racional de equipamiento y reactivos, desempeñando con calidad el desarrollo de las determinaciones y el resultado veraz.

FASES EN EL TRABAJO DE LABORATORIOS:

FASE PRE ANALÍTICA:

Etapa previa a la realización de una determinación de laboratorio. Esta incluye:

- CONFECCIÓN DE LA SOLICITUD DE LA INVESTIGACIÓN.
- PREPARACIÓN DEL PACIENTE.
- CUIDADOS EN LA OBTENCION DE LA MUESTRA.

El médico y el personal de los laboratorios conceden a esta etapa gran importancia pues de la correcta información, brindada por el personal del laboratorio y la aplicación de ésta por el paciente, dependerá en gran medida la calidad de los resultados que se obtendrán, correspondiéndose con la patología o afección del paciente.

FACTORES QUE INFLUYEN EN ESTA ETAPA:

- **DEPENDIENTE DEL PACIENTE:**
- ❖ **FACTORES NO SUCEPTIBLES DE MODIFICACIÓN:** Edad, sexo, raza
Ejs: Hb, Fe, algunas determinaciones difieren entre el hombre y la mujer.
- ❖ **FACTORES SUCEPTIBLES DE MODIFICACIÓN:**
Ejs: Ejercicio físico intenso: glucosa colesterol
 Estrés: modifica la fórmula leucocitaria, glicemia y colesterol.

➤ **DEPENDEN DEL PERSONAL DE SALUD:**

- ❖ Error en la toma de muestra, identificación y manipulación de la misma.
- ❖ Error en la conservación de las muestras.
- ❖ Error en la preparación del paciente.
- ❖ Información al laboratorio incompleta, inexacta e ilegible por parte del personal médico.

➤ **SOLICITUD DE ESTUDIOS:**

Con frecuencia se subestima la importancia de la correcta solicitud de investigaciones, Se debe escribir con letra clara y legible todos los datos. Debe utilizarse el modelaje oficial con la debida impresión diagnóstica e identificando la solicitud a pacientes portadores o sospechosos de enfermedades que impliquen riesgos de contagio para el personal. Ejs: Hepatitis, VIH, etc.

FASE ANALÍTICA:

Se desarrolla en el interior de los laboratorios, consiste en la selección, aplicación y evaluación de los diferentes procederes analíticos. CONSTITUYE EL FACTOR FUNDAMENTAL. Tiene como objetivo principal establecer las características analíticas y funcionales de los métodos de análisis y las técnicas de control de calidad que se utilizan para detectar los errores que afecten la calidad de los resultados obtenidos, una vez que el método ha sido introducido en el trabajo habitual del Laboratorio.

FASE POST ANALÍTICA:

Confirmación de los resultados obtenidos en la fase anterior y la confección del informe por parte del personal de Laboratorio que incluye la adecuada interpretación de los resultados por el médico de asistencia, la evaluación del tiempo total invertido en la obtención (desde la solicitud hasta que se recibe el informe de los resultados) y la confiabilidad de la información.

MUESTRAS BIOLÓGICAS:

Se utilizan para cuantificar algunos componentes normalmente presente e investigar la presencia de algún elemento cuyo hallazgo sea indicativo de alteración o represente enfermedad para el paciente.

El MATERIAL BIOLÓGICO utilizado en los laboratorios, varía de acuerdo a los propósitos o tipos de investigación, pudiendo ser:

- Sangre
- Suero o plasma
- Orina
- Heces
- LCR
- Sudor
- Tejidos
- Contenido gástrico e intestinal
- etc.

La **CALIDAD** de las muestras es un factor importantísimo en la confiabilidad de los resultados, por ello se deben extremar los cuidados en la obtención, preservación y preparación de las mismas.

EXAMENES QUE SE REALIZAN EN LOS LABORATORIOS:

En la actualidad es considerable la variedad de exámenes que se realizan en los Laboratorios aunque NO todos pueden realizar la totalidad de las determinaciones dependiendo de la política de salud en los diferentes niveles de atención existentes. Las determinaciones se pueden agrupar en:

- **QUIMICA SANGUINEA:** Incluye las determinaciones para el estudio del metabolismo de los glúcidos o carbohidratos, proteínas, lípidos, agua, electrolitos, equilibrio ácido – básico, enzimas séricas, hormonas, nivel de medicamentos en sangre, entre otras.
- **HEMATOLOGÍA:** Grupo de exámenes denominados básicos (Hb, Hto, leucograma, recuento de células sanguíneas, vsg, constantes corpusculares)

En la sección de **ESPECIAL**, se realizan determinaciones más especializadas como son: medulograma, estudio de las anemias, estudio de la hemostasia: explora

todos los mecanismos de la coagulación, la fibrinólisis y la actividad de los trombocitos.

➤ **INMUNOLOGÍA:** Amplia gama de investigaciones para el estudio de la autoinmunidad, inmunodeficiencias, anticuerpos antinucleares, tipaje para trasplantes, entre otros.

➤ **MICROBIOLOGÍA:** Exámenes parasitológicos, serológicos y microbiológicos

➤ **MEDICINA TRANSFUSIONAL:** Consta de dos servicios fundamentales:

DONACION DE SANGRE: Investigación de la sangre donada por individuos supuestamente sanos, la que se procesa, previos resultados NEGATIVOS serológicos y por PCR, obteniendo diferentes hemocomponentes.

Se realiza AFERESIS PRODUCTIVA, a donantes habituales.

SERVICIO DE TRANSFUSIONES: Se investiga la compatibilidad entre el donante y el receptor, con el fin de evitar efectos indeseables en este último.

➤ **CITOHISTOPATOLOGIA:** Consta de dos secciones: HISTOPATOLOGIA Y CITOLOGÍA, donde se procesan líquidos biológicos (LCR, ascítico, pleural), secreciones (mama, vaginales, carrillos bucales, esputos) y tejidos (biopsias y necropsias).

El material obtenido debe ser enviado rápidamente al Laboratorio para su examen macroscópico, por parte del patólogo, obteniendo fragmentos representativos del material en estudio, colocándolos en soluciones fijadoras para evitar cambios putrefactivos (por acción bacteriana en tejidos muertos) o autolíticos (por la acción de las enzimas en las propias células). También se reciben líquidos biológicos que han sido acumulados en cavidades del organismo en el curso de algunas enfermedades (líquido pleural, líquido peritoneal), así como secreciones (vaginal, uretral, bucal). Todas estas muestras son sometidas a diferentes procesos para su estudio.

LAS PRUEBAS DE LABORATORIO COMO ELEMENTO DE VALORACIÓN DEL ESTADO DE SALUD DEL INDIVIDUO:

Los laboratorios en general son especialidades médicas pertenecientes al grupo denominado MEDIOS DIAGNÓSTICOS, resultando de gran utilidad, para la práctica médica, en la actualidad.

El **OBJETIVO** de las pruebas de Laboratorio son:

- Ayudar a la confirmación o descarte de un diagnóstico.
- Establecer un pronóstico.
- Controlar la evolución de la enfermedad y los resultados del tratamiento.
- Detectar complicaciones.
- Colaborar en estudios epidemiológicos y de grupos de riesgo.
- Parte esencial de los protocolos de investigación científica y de los ensayos clínicos, para la introducción de nuevos medicamentos.

Por lo que se hace grandemente necesario e indispensable un correcto dictamen tecnológico para apoyar el diagnóstico integral del individuo.

CONTROL ADMINISTRATIVO E IMPORTANCIA DEL CONTROL ESTADISTICO DE LAS INVESTIGACIONES REALIZADAS:

Para el buen desarrollo del trabajo de los Laboratorios se hace necesario un estricto control administrativo, que incluye desde el Libro de entrada de pacientes y donde se registran todos los datos concernientes al mismo (nombre y apellidos, historia clínica, sala y cama o consulta externa, si fuese el caso, las indicaciones de todos los complementarios y cualquier otro dato de interés), hasta el libro de registro de los resultados que nos permite calcular la estadística diaria, mensual y anual para la planificación adecuada de recursos en general, humanos, materiales, reactivos, etc, garantizando de esta forma el adecuado desempeño en el trabajo.

SISTEMA INTERNACIONAL DE UNIDADES:

El SIU constituye un gran paso de avance en la estandarización de las unidades de medida. en cualquier laboratorio de nuestro país y en cualquier nivel de atención, se

obtienen valores, de las diferentes determinaciones, que pueden compararse con centros de otros países.

ESTRUCTURA DEL SIU: Comprende tres tipos de unidades:

1.- UNIDADES DE BASE

2.- UNIDADES DERIVADAS

3.- UNIDADES SUPLEMENTARIAS

UNIDADES DE BASE: Agrupan a los intereses de los PROFESIONALES DE LA SALUD.

Ej: El mol constituye la UNIDAD MAS IMPORTANTE, se hace acompañar del litro (L) y ambos expresan VOLUMEN.

MAGNITUD	NOMBRE	SIMBOLO
Longitud	metro	m
Masa	kilogramo	Kg
Tiempo	segundo	s
Cantidad de sustancia	mol	mol
Temperatura termodinámica	kelvin	K
Corriente eléctrica	ampere	A
Intensidad luminosa	candela	cd

UNIDADES DERIVADAS: Se forman al multiplicar una unidad de base por sí misma o al asociar dos o más unidades de base por una simple multiplicación o división, constituyendo un amplio grupo de unidades.

MAGNITUD	NOMBRE	SIMBOLO
Superficie	metro cuadrado	m ²
Volumen	metro cúbico	m ³
Concentración de cantidad de sustancia	mol por metro cúbico	mol/m ³

UNIDADES SUPLEMENTARIAS: Independientes de las unidades de base y no son de gran interés para los profesionales de la salud.

Existe un cuarto grupo constituido por unidades NO pertenecientes al SIU que son muy conocidas y utilizadas.

MAGNITUD	NOMBRE	SIMBOLO	VALOR EN UNIDADES DEL SIU
Tiempo	minuto	min.	G x s
	hora y día	h y d	3 600 s y 86 400 s
Volumen	litro	L	$1 \text{ dm}^3 = 10^{-3} \text{ m}^3$

Tema 2: Bioseguridad

CONCEPTO DE BIOSEGURIDAD:

Conjunto de medidas técnicas, ingenieras y científicas encargadas de proteger de los riesgos biológicos, al hombre, la comunidad y el medio ambiente.

Existe el decreto ley 190 que define la **BIOSEGURIDAD** como:

Disciplina que se encarga de la prevención y control de los riesgos biológicos asociado al uso de los agentes biológicos en las instalaciones y a la liberación de organismos al medio ambiente

PRINCIPIOS BÁSICOS DE LA BIOSEGURIDAD:

- 1.- Garantizar la ejecución correcta de las buenas prácticas de laboratorio, por parte del personal.
- 2.- Disponer de los equipos de seguridad.
- 3.- Diseñar adecuadamente las instalaciones de los laboratorios.

OBJETIVO DE LA BIOSEGURIDAD:

Es preservar al hombre de los riesgos derivados del trabajo en el laboratorio, por lo que incluye además de las medidas contra los riesgos biológicos, los relacionados con la protección contra el daño por agentes químicos y físicos.

CONCEPTO DE RIESGO:

La OPS (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD) define como riesgo la probabilidad de que se produzca daño a un individuo o grupo de éstos en un área determinada.

LOS ACCIDENTES SON CONSECUENCIA, NO PLANEADAS PERO PREVISIBLES DE ACTOS INSEGUROS, SON UNA COMBINACIÓN DE CIRCUNSTANCIAS DE RIESGO.

TIPOS O AGENTES DE RIESGO:

Los agentes potenciales de riesgo para la salud en el trabajo de los laboratorios se clasifican para su estudio en cuatro grupos:

- BIOLÓGICOS
- QUÍMICOS
- FÍSICOS
- HUMANOS Y AMBIENTALES

RIESGO BIOLÓGICO: Es el principal en los laboratorios médicos, el individuo puede contraer una enfermedad infecciosa mediante el contacto con un agente patógeno (bacterias, virus, hongos, rickettsias) que estén presentes en el material analizado.

CAUSAS DE RIESGO BIOLÓGICO:

- Accidentes por punción.
- Derrame de sustancias contaminadas.
- Producción de aerosoles.
- Cristalería rota contaminada.
- Aspiración oral con pipetas (pipetear con la boca)
- Incorrecto trabajo con las centrifugas.
- Mala higiene personal.
- No cumplir las medidas de seguridad (guantes, batas, espejuelos, etc)
- Inadecuada disposición de los desechos potencialmente contaminantes.

RIESGO QUÍMICO: El trabajo del laboratorio requiere la manipulación de sustancias químicas que, por sus propiedades, pueden resultar peligrosas para el hombre, las instalaciones y el medio ambiente. Estas propiedades se clasifican en:

- **EXPLOSIVOS** (se consideran las más peligrosas, ya que por choque, fricción o calor pueden explotar y producir quemaduras al hombre e incendio en los locales)(productos derivados del acetileno, compuestos nitrosos, peróxidos, etc)
- **INFLAMABLES** (sustancias fáciles de inflamar o arder sin llama por la acción de una fuente encendida)

- **TÓXICOS** (grupo de sustancias que desprenden gas venenoso)(mercurio, arsénico, fluoruros, bencenos)
- **CORROSIVOS** (sustancias que pueden destruir los tejidos vivos en el ser humano o producir irritación o quemaduras)(ácidos fuertes, ácido clorhídrico, hipoclorito de sodio, ácido acético, etc)
- **IRRITANTES** (capaces de provocar reacción inflamatoria en ojos, piel, vías respiratorias)(formaldehído, metanol, etc)
- **NOCIVAS** (**cancerígenas** (producen tumores malignos en hombre y animales), **mutagénicas** (producen cambios químicos en la composición de bases del ADN) y **teratógenicas** (agentes que producen efectos en el embrión o feto que dan lugar a malformaciones irreversibles)).

RIESGO FISICO: Los agentes físicos pueden provocar daños considerables e incluso causar la muerte al ser humano durante el trabajo en los laboratorios. Se agrupan en:

- **MECANICOS**
 - Objetos que interfieren en el movimiento y pueden provocar caídas.
 - Objetos en movimiento (motores, centrifugas, compresores).
 - Objetos con energía potencial mal ubicados o sometidos a altas presiones.
- **TERMICOS**
 - Fuego (mechero Bunsen).
 - Equipos que generan altas temperaturas (hornos) o muy bajas(Congeladores)
- **ELECTRICOS**
 - Cables y equipos eléctricos defectuosos.
 - Ausencia de conexión a tierra.
 - Errores operacionales (posibilidad de chispas, fuego)
- **RADIACIONES**
 - Las radiaciones ionizantes son las de mayor potencial de riesgo, isótopos radioactivos (RIA).
 - Luz ultravioleta y rayos láser.

RIESGO CONDICIONADO A FACTORES HUMANOS Y AMBIENTALES:

Existen un diverso grupo de estos factores que pueden incrementar, de manera considerable, el riesgo de los otros factores y están estrechamente relacionados con las aptitudes y habilidades para el trabajo, el estado físico y psicológico del trabajador, su capacidad intelectual y entrenamiento laboral así como la organización general y las condiciones ambientales del laboratorio.

Entre los factores **HUMANOS** están:

- Problemas de salud o personales.
- Fatiga.
- Apatía o consumo de medicamentos.
- Dificultades para la concentración y percepción de los riesgos.
- Desconocimiento de las medidas de seguridad o exceso de confianza.

AMBIENTALES: Condiciones de trabajo a las que está sometido el hombre, como son: temperatura (alta o baja), humedad, iluminación inadecuada, ruidos, etc.

CLASIFICACIÓN DE LOS AGENTES BIOLÓGICOS EN GRUPOS DE RIESGO:

Según la clasificación dada por la OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD) se establecen cuatro grupos de riesgo para microorganismos que pueden causar daño en humanos y animales, atendiendo a la peligrosidad del agente y si el daño es individual o comunitario.

GRUPO DE RIESGO I: Trabaja con agentes que provocan escaso riesgo individual y comunitario. Microorganismos con poca posibilidad de provocar daño en humanos o animales (eschericia coli, bacillus subtilis, etc)

GRUPO DE RIESGO II: Riesgo individual moderado y comunitario moderado. Agentes patógenos que pueden provocar enfermedades en humanos o animales con poca posibilidad de entrañar un riesgo grande.(brucella, mycobacterium tuberculosis, etc)

GRUPO DE RIESGO III: Riesgo individual elevado y comunitario escaso. Las infecciones NO se propagan de una persona a otra.

GRUPO DE RIESGO IV: Riesgo individual y comunitario elevado. Los microorganismos suelen provocar enfermedades en el hombre y animales, propagándose con facilidad. Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades graves en las personas o en los animales y que pueden propagarse fácilmente de un

individuo a otro, directa o indirectamente, que usualmente no existe un tratamiento específico eficaz, son exóticos para el territorio nacional.

DISEÑO DE LAS INSTALACIONES SEGÚN EL TIPO DE RIESGO:

En correspondencia con lo anterior, los laboratorios han sido clasificados en diferentes modos de seguridad:

LABORATORIO BÁSICO: NIVEL DE SEGURIDAD I. Existe en la enseñanza básica. Se trabaja con agentes patógenos del grupo de riesgo I.

LABORATORIO BÁSICO: NIVEL DE SEGURIDAD II. Existe en los servicios primarios de salud y en la enseñanza universitaria. Se trabaja con agentes del grupo de riesgo II.

La mayoría de los laboratorios de nuestra red nacional de salud pertenecen a este nivel.

LABORATORIO DE CONTENCIÓN: NIVEL DE SEGURIDAD III. Se crea para el diagnóstico especializado e investigaciones. Se trabaja con agentes del grupo de riesgo III.

LABORATORIO DE MÁXIMA CONTENCIÓN: NIVEL DE SEGURIDAD IV. Se crea para actividades especializadas de trabajo con agentes del grupo de riesgo IV.

- ❖ Cada tipo de instalación tiene sus particularidades constructivas que garantiza la menor afectación al trabajador y al medio ambiente.
- ❖ Para los laboratorios básicos con niveles de seguridad I y II NO se establecen requisitos especiales de diseño, salvo aquellos que garanticen un confort y seguridad acorde al grupo de riesgo que se manipule en ellos.
- ❖ Para todos los casos se establecen un grupo de obligaciones que deben ser cumplidas por todos los trabajadores de la instalación y conocer las buenas prácticas de Laboratorio.

Estas prácticas unidas a la efectividad de los sistemas técnicos e ingenieros instalados, garantiza que el riesgo a que está sometido el trabajador esté en el mínimo de posibilidad de afectarle, protegiendo así mismo al medio ambiente.

ENFERMEDADES PROFESIONALES:

LA OMS Y LA OTI (ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DEL TRABAJO) definen las enfermedades profesionales como las alteraciones de la salud producidas por acción

directa del trabajo, en trabajadores que, de modo habitual, se exponen a factores etiológicos constantemente, presentes en determinadas profesiones u ocupaciones.

EPIDEMIOLOGIA:

El criterio higiénico-epidemiológico es de gran valor ya que permite la investigación en el terreno de la existencia de riesgos capaces de producir algunas afectaciones a la salud del trabajador.

Permite observar el cumplimiento o violación de las normas establecidas, el uso de medios de protección personal, así como las condiciones higiénicas sanitarias de la instalación.

También se puede obtener información de casos diagnosticados como enfermedad profesional anteriormente o incluso trabajadores con similar situación, ya que la exposición al riesgo es la misma.

INCIDENTES DE TRABAJO:

Hecho que ocurre frecuentemente durante el trabajo y que tiene connotación imperceptible en cuanto al riesgo aparente.

ACCIDENTES DE TRABAJO:

Están contemplados en la ley 24 de Seguridad Social.

Los accidentes son hechos fortuitos cuya fecha de origen y circunstancia, en que se presentan, son muy concreto, su ocurrencia es súbita, de evaluación aguda. Ejs: una intoxicación, un traumatismo.

MEDIDAS A TOMAR EN CASO DE ACCIDENTES:

- Valoración del estado de salud del trabajador en el momento de sufrir el accidente de trabajo.
- Valoración de las causas que produjeron el mismo.
- Tratamiento inmediato y continuidad de ser necesario.
- Determinar las causas por las que se produjo.

FACTORES CAUSALES DE ACCIDENTES:

- **CAUSAS TECNICAS**
 - Mantenimiento y modificaciones tecnológicas.
 - Envejecimiento de medios de trabajo, instalaciones y medios de protección.
- **CAUSAS ORGANIZATIVAS**
 - Mala organización del trabajo.
 - Falta de supervisión y control.

➤ **CAUSAS CONDUCTUALES**

- Debido a la conducta humana o sea el riesgo humano.

MEDIDAS PARA LA PREVENCION Y/O LIMITACION DE LOS ACCIDENTES Y ENFERMEDADES PROFESIONALES (TEORIA DE HADDAN):

➤ **PREVENCION DE DAÑOS:**

- 1.- Prevenir el acúmulo de cantidades riesgosas de energía.
- 2.- Prevenir o modificar la liberación de energía.
- 3.- Proveer una separación temporal y espacial entre la energía y la estructura susceptible al daño.

➤ **LIMITACION DE DAÑOS:**

- 1.- Limitar el daño cuando ocurre un accidente si no se toman las medidas de precaución.
- 2.- Proveer una respuesta óptima de emergencia.
- 3.- Proveer los servicios para reducir los resultados del daño.

EMBALAJE Y ENVÍO DE MUESTRAS EN CONDICIONES DE SEGURIDAD:

Cuando las muestras no se pueden procesar en el momento deben conservarse y transportarse en condiciones de seguridad para mantener la calidad de la misma, debe tenerse en cuenta: el tipo de muestra, la prueba de laboratorio que se va a realizar, el tiempo y la temperatura.

Ejs: Para una determinación de Gasometría (medición de gases en sangre) la muestra debe sumergirse en una cubeta con hielo, tapada y evitando movimientos bruscos.

Una bolsa de sangre debe trasladarse lo más pronto posible, en cubetas plásticas y sin movimientos bruscos.

Cuando en Microbiología, una muestra no puede ser sembrada de inmediato, por haber sido tomada en un lugar distante del laboratorio, se siembra en un medio de transporte y se traslada lo más rápido posible (este medio mantiene la viabilidad del microorganismo pero no favorece significativamente su desarrollo).

ADEMÁS SE DEBE TENER EN CUENTA:

Tipo de transporte a utilizar.

El personal que efectúa el traslado debe estar entrenado para garantizar la seguridad de las muestras.

Las muestras deben trasladarse tapadas y correctamente identificadas.

CORRECTA ELIMINACIÓN DE SUSTANCIAS DE DESECHO:

Los **materiales de desecho** se someten a un proceso de desinfección que puede ser química o en autoclave y posteriormente se incineran, pudiendo incinerarse directamente, bajo el control del laboratorio, en depósitos específicos destinados para este fin.

Los **materiales reciclables** se someten a desinfección química o en autoclave, se lavan, se secan y se preparan para su reutilización.

Los residuos biológicos son considerados peligrosos, por contener agentes biológicos en cantidad y virulencia suficiente, para producir infección o enfermedad infecciosa, por lo que se clasifican en:

- COMUNES (TIPO A)
- POTENCIALMENTE INFECCIOSOS (TIPO B)
- INFECTO CONTAGIOSOS (TIPO C)
- ORGANICOS HUMANOS (TIPO D)
- PELIGROSOS (TIPO E)

y el tratamiento que se les da es por **METODO FÍSICO (ESTERILIZACIÓN), METODO QUIMICO (DESINFECCION) E INCINERACIÓN.**

PLANES DE CONTINGENCIA Y PROCEDIMIENTOS DE EMERGENCIAS:

El equipamiento y diseño del Laboratorio es una parte fundamental en el esfuerzo de protección a los trabajadores durante la realización de sus tareas y representa una **barrera secundaria de protección.**

Entre las **barreras de protección** tenemos:

Lavado de manos

Uso de guantes, tapaboca o nasobuco

Uso de lentes o delantal

La responsabilidad principal de la seguridad es del Jefe administrativo, sin embargo todos los trabajadores tienen funciones y responsabilidades propias como son:

Seguir las prácticas y procedimientos seguros establecidos.

Reportar accidentes.

Reportar condiciones inseguras y de riesgos

Someterse periódicamente a los chequeos médicos.

Colaborar con las auditorías de seguridad.

ELEMENTOS DE UN PROGRAMA DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO:

- Programa de salud ocupacional.
- Vigilancia médico- sanitaria: Chequeo médico y atención hospitalaria.
- Vacunación.
- Plan de contingencia y procedimientos de emergencias.

PLANES DE CONTINGENCIA:

Es un documento donde se relaciona un plan de medidas que se elaboran por todas las instancias y niveles de organización, el cual conlleva las medidas preventivas dirigidas a evitar una catástrofe, accidente o para disminuir sus efectos y actuar de forma oportuna, organizada y eficaz.

Intervienen la Defensa Civil, Ministerio del Interior, Salud Pública, CITMA.

Debe tener el siguiente contenido:

Plan de contingencia a nivel de Territorio, Organismo, Entidad económica.

Aprobado por y firmado,

Introducción y objetivos.

Evaluación del riesgo.

Medidas a cumplir por etapas.

Medidas para el aseguramiento.

Organización de los recursos humanos

Organización de las comunicaciones

Organización de las cooperaciones

Organización de la dirección.

PROCEDIMIENTOS O PLANES DE EMERGENCIA:

Documento que se elabora por todas las instancias y niveles, es una obligatoriedad de cada uno de las instalaciones donde se manipulan o conservan agentes biológicos y está reglamentado en el capítulo 2 artículo 5 del decreto ley 190 emitido por el CITMA en 1999.

Ejemplo de plan de emergencia ante el derrame o salpicadura de sangre:

Limpieza de las salpicaduras o derrames de sangre: Todas las instalaciones que manipulan sangre se tienen que preparar de antemano para las salpicaduras y/o derrames.

- a) Que el diseño de las áreas de trabajo facilite la limpieza.
- b) Preparar un set para limpieza que contenga todos los suministros necesarios, los instrumentos y las instrucciones de uso, de manera que esté al alcance de los que deban usarlo .
- c) Asignar la responsabilidad de mantener el set, limpiar el derrame, reportar el incidente, y revisar sus consecuencias al personal.
- d) Entrenar al personal en la limpieza y el reporte de los accidentes significativos.

Cuando ocurra el derrame, los siguientes pasos se llevarán a cabo en el orden listado:

- a) Abandonar el área por 30 minutos si se ha formado un aerosol y mantener alerta a todos para no pasar al área.
Cambiar las ropas si se han contaminado.
Si el derrame ocurre en la centrífuga, apagar el equipo inmediatamente y dejar la tapa cerrada por 30 minutos.
- b) Usar la ropa protectora apropiada y guantes.
Si hay objetos cortantes involucrados, los guantes tiene que ser a prueba de pinchaduras, y un recogedor u otro instrumento se debe usar para evitar daños durante la limpieza.
- c) Cubrir el derrame totalmente con material absorbente. Retire el absorbente y todo objeto roto de vidrio usando un recogedor y una pala

(El uso de absorbentes previene la formación de aerosoles y la diseminación de los derrames).

- a) Limpiar con detergente.
- b) Inundar el área con un desinfectante, como una solución recién preparada 1:10 de hipoclorito de sodio (lejía), y déjela actuar por 15-20 minutos.
- c) Retirar el desinfectante.
- d) Eliminar todos los materiales empleados de manera segura según las normas de bioseguridad.

TODOS LOS OBJETOS CONTAMINADOS CON SANGRE DEBEN SER PASADOS POR AUTOCLAVE O INCINERADOS.

Tema 3: Agua.

AGUA. CONCEPTO:

Líquido transparente, incoloro, inodoro e insípido que se congela a 0°C, pasando al estado sólido y ebulle (hierve) a 100°C, pasando al estado de vapor de agua.

IMPORTANCIA:

Es indispensable para la vida por constituir el elemento esencial de todos los tejidos y líquidos orgánicos, siendo considerada solvente universal para la disolución de una gran de solutos y otros compuestos en estado líquido.

COMPOSICION QUIMICA DEL AGUA:

Está compuesta por dos (2) átomos de Hidrógeno y un (1) átomo de Oxígeno formando la molécula o unidad fundamental de este líquido, cuya fórmula química es **(H₂ O)**. Su configuración espacial es **NO LINEAL** sino **ANGULAR** por lo que se clasifica el **enlace** como **polar**, lo cual propicia que sobre el átomo de Oxígeno exista una cierta densidad de cargas negativas y sobre el Hidrógeno una densidad de cargas positivas, lo que determina sus propiedades disolventes.

EL AGUA COMO REACTIVO:

En el laboratorio el agua es el reactivo más empleado, desempeñando un protagonismo esencial en las reacciones químicas, debido a que al ionizarse se une a muchos ácidos, formando hidratos al unirse con ácidos y bases.

REQUISITOS DE PUREZA:

El agua como se encuentra en la naturaleza **NO ES PURA**, ya que al caer como lluvia o estar depositada o correr por la tierra, se incorporan a ella partículas orgánicas e inorgánicas.

Para realizar las determinaciones en los Laboratorios es necesario que esté lo más pura posible pues de lo contrario se afectaría la calidad de los resultados de las investigaciones.

El grado de pureza del agua se mide por la conductividad de la misma.

EFFECTOS INDESEABLES DE LOS CONTAMINANTES DEL AGUA:

Dentro de estos elementos tenemos:

- El CLORO posee un gran poder de oxidación por lo que puede alterar la composición química de uno o varios compuestos.
- El FLUOR y el COBRE inactivan las enzimas.
- Las SALES de MERCURIO las activan.

Existen dos métodos fundamentales para purificar el agua: la **DESTILACIÓN** y la **DESIONIZACIÓN**.

DESTILACIÓN: CONCEPTO, TIPOS Y FUNCIONAMIENTO:

Consiste en someter al agua a temperatura de ebullición (100⁰C) en el interior de un destilador metálico o de vidrio, diseñado para que los vapores que se desprenden de este proceso pasen a un sistema de enfriamiento que los condensa, haciendo que pasen nuevamente al estado líquido con una mejor calidad, ya que los contaminantes al no tener la capacidad de evaporarse quedan retenidos en el destilador.

El agua destilada obtenida no esta totalmente pura ya que el vapor de agua que se forma puede arrastrar mecánicamente partículas de agua que no estén en estado de vapor, no obstante **EL AGUA DESTILADA PUEDE EMPLEARSE EN EL TRABAJO DIARIO DEL LABORATORIO SIN QUE OCURRAN ERRORES APRECIABLES, ES DE MAYOR UTILIDAD EN LOS LABORATORIOS EN GENERAL**

Si se requiere para algunas determinaciones una mayor calidad del agua, esta agua destilada se somete a una segunda destilación obteniéndose **AGUA BIDESTILADA** o a una tercera destilación obteniendo agua tridestilada y así sucesivamente.

DESIONIZACION: CONCEPTO. FUNCIONAMIENTO. VENTAJAS Y DESVENTAJAS.

Consiste en hacer pasar el agua corriente por una columna de resinas, que captan los aniones y cationes que la contaminan, adquiriendo un buen estado de pureza, incluso mejor que la bidestilada aunque tiene la **DESVENTAJA** que como el proceso no lleva implícito su esterilización debe ser renovada diariamente.

VENTAJA: Estado de pureza.

Por lo tanto podemos apuntar que la ventaja del agua desionizada es su estado o grado de pureza y su desventaja que debe ser renovada o cambiada diariamente.

PH DEL AGUA DESTILADA. PROCESO DE DESCARBONIZACIÓN O DESCARBOXILACIÓN.

Oscila entre 4 y 5, debido a la presencia de dióxido de carbono (CO_2) atmosférico disuelto.

Si se desea neutralizar este Ph ácido (menor de 7), para que no interfiera en algunos procederes, el agua destilada debe ser sometida a un proceso de **DESCARBONIZACIÓN O DESCARBOXILACIÓN**, de la siguiente manera:

- Se vierte el agua en un erlenmeyer y se somete a temperaturas de ebullición por espacio de 2 a 5 minutos.
- Antes de apagar la fuente de calor, tapar el erlenmeyer con un tapón perforado de caucho, provisto de un tubo trampa con bolas de hidróxido de sodio.
- Después que el agua se ha enfriado, se verterá en recipientes apropiados, donde se conservará hasta su empleo.

La conductividad o capacidad del agua de conducir la corriente eléctrica brinda el grado de pureza y por tanto la calidad de la misma, como observamos en la siguiente tabla:

TIPO DE AGUA	CONDUCTIVIDAD
	(ohms – 1 cm – 1)
CORRIENTE	300
DESTILADA	5
BIDESTILADA	4
DESIONIZADA	0,2

Tema4: Cristalería de laboratorio.

Introducción:

El vidrio se fabrica mediante la fusión de arena sílica con sales de sosa o a una temperatura de 1000⁰c. El producto fundido se vierte en moldes de acuerdo a los objetos que se van a producir debido a la propiedad de no cristalizarse cuando se enfría quedando como un cuerpo sólido, generalmente transparente.

Cristalería de laboratorio. Concepto:

Todos aquellos objetos utilizados en la realización de diferentes procedimientos técnicos que independientemente de su forma y tamaño, están constituidas solamente por vidrio el cual debe tener resistencia química, térmica y mecánica.

Distintas clases de vidrio:

El elemento más importante en la composición del vidrio es el anhídrido silícico, el que a su vez le comunica, según el grado de concentración, la resistencia química, térmica y mecánica del vidrio, además del anhídrido silícico, lo forman otros componentes como los óxidos de na (sodio) y k(potasio), es esta la composición del vidrio ordinario o vidrio de ventana.

En los vidrios especiales la proporción de anhídrido silícico es mucho más alta que en el vidrio común, hay vidrio como el pyrex (pairex) de alta resistencia que en su composición tiene el borosilicato de sodio y aluminio que le brinda mayor resistencia. (este es el vidrio más utilizado en el laboratorio).

Sustitutos modernos del vidrio: en la actualidad los diversos objetos de vidrio que integran la cristalería de laboratorio, también se fabrican de material plástico, especialmente **teflón** (tetrafluoruroetileno), polímero de bajo costo, caracterizado por su dureza, lo que le confiere una alta resistencia contra impactos, además de tener la propiedad de permanecer inerte durante las reacciones químicas, lo que valida como sustituto eficaz del vidrio, con la **ventaja** de que dado su bajo costo, algunos objetos, como por ejemplo: las jeringuillas pueden ser desechadas sin grandes afectaciones económicas. los frascos reactivos, tubos de centrifuga, tubos de ensayo, etc.

Clasificación de la cristalería de laboratorio:

La cristalería de laboratorio se clasifica en **cristalería general**, esta a su vez se divide en cristalería general de almacenaje y de trabajo y

La cristalería de medición, esta a su vez en cristalería de medición volumétrica y no volumétrica.

Cristalería general de almacenaje:

Incluye todas las unidades destinadas a **contener o almacenar** productos químicos (materia prima) o soluciones o reactivos elaborados.

Tiene como características fundamentales:

- alta resistencia química.
- cierre hermético.
- fotorresistencia, para preservar de la acción de la luz a los productos fotosensibles.

Cristalería general de trabajo. Diferentes tipos. Uso específico:

Se utiliza para la realización de diversos procedimientos técnicos.

La mayoría se fabrica de diferentes tamaños y capacidades.

Tipos y uso específico:

- **frascos erlenmeyer:** su cuerpo es cónico de base plana y termina en su parte superior en un cuerpo cilíndrico corto. se destinan a la preparación de reactivos y especialmente cuando hay que someter el contenido al calor sin que se produzca pérdida de líquido por evaporación, se fabrican de diferentes tamaños.
- **frascos kitasato:** son similar a los erlenmeyer con la diferencia de que el cuello tiene insertado un pequeño tubo corto en dirección horizontal abierto en su porción distal, siendo las paredes de vidrio más grueso, para soportar las diferentes presiones

externas e internas, provocadas por las técnicas de filtración al vacío, para lo cual se emplean. se fabrican de diferentes tamaños.

- **frascos para reactivos:** se fabrican en tamaños para contener volúmenes de 25 ml a 1l, puede ser de cristal transparente o ámbar, éstos últimos para proteger los reactivos de la luz, las tapas pueden ser de cristal esmerilado o plásticos de rosca, de acuerdo al tipo de reactivo a contener,
- **frascos goteros:** generalmente se fabrican para contener volúmenes de 25 a 100 ml, son construidos de cristal transparente o ámbar, la tapa y el cuello tienen una construcción especial que permite que el reactivo salga gota a gota cuando el frasco es inclinado, si se hace que coincidan las ranuras de la tapa y el cuello del frasco previamente.
- **frasco redondo de fondo plano:** se utilizan en la preparación de soluciones y al igual que los frascos cónicos casi siempre son de cristal resistente al calor. para someterlos a la llama es necesario utilizar una rejilla de amianto.
- **vasos de precipitado o beakers:** vasijas cilíndricas con capacidad entre 5ml y 5l, en su borde superior tienen un reborde alargado (pico) que permite verter el contenido sin derramarse.
- **vasos koplín:** depósitos cuadrados, verticales u horizontales, que en su interior tienen un saliente de cristal que actúan como separadores parciales. se utilizan para introducir láminas porta objetos durante el proceso de fijación y coloración de las muestras.
- **embudos:** instrumentos de cristal con una porción cónica y una inferior cilíndrica y estrecha de longitud variable. se fabrican de varios tamaños desde 30 hasta 5000 ml, pueden ser lisos o estriados. se utiliza para trasvasar líquidos y sostener papel de filtro en el proceso de filtración.
- **embudo buschner:** tipo de embudo no cónico que tiene un soporte de porcelana con múltiples perforaciones, se utiliza para la filtración de líquidos mediante placas filtrantes.
- **placas de petri:** vasija circular, de cristal o plástica plano, con un borde que se levanta alrededor de 1 cm de alto y una tapa de igual construcción, cuyo fondo descansa en dicho borde. se utiliza para contener medios de cultivo sólidos.
- **tubos de ensayo:** se fabrican de tamaños variados, los mas utilizados en el laboratorio son los de 12 x 75, 13 x 100, 15 x 125, 16 x 150 mm. tienen forma cilíndrica

y fondo cóncavo redondeado, algunos pueden tener tapas de rosca, aunque lo más usual es taparlo con tapas de goma. se utiliza para contener y trasladar muestras biológicas y en los diferentes procedimientos técnicos.

- **tubos de ensayo cónicos:** se fabrican con cristal grueso, graduados en ml o no, con capacidad de 10 a 15 ml, pueden llevar tapas o no. se utilizan para centrifugar muestras biológicas, con el fin de separar sólidos de líquidos o líquidos no miscibles (que pueden mezclarse) de diferentes densidades.
- **vidrio reloj:** cristalería circular y cóncava de aspecto transparente o de porcelana, similar a los utilizados en los relojes despertadores. se utiliza para efectuar pesadas de productos sólidos con excepción de aquellos que son higroscópicos (que absorben la humedad del aire) o volátiles.
- **láminas porta objetos:** láminas de cristal plano, de aspecto transparente y forma rectangular, miden de 75 cm de largo x 2,5 cm de ancho. se utiliza para colocar muestra que van a ser observadas al microscopio.
- **láminas cubre objetos:** laminillas muy delgadas, transparentes o incoloras, la forma varía de cuadrada (22 x 22 cm) a rectangular (22 x 50 cm). son empleadas para cubrir las muestras o preparaciones que han sido coloreadas previamente sobre la lámina porta objeto para ser observadas al microscopio, también se fabrican con cristal de mayor grosor con el fin de emplearlas en la cámara de Neubauer.
- **láminas excavadas:** similares a las porta objetos con la diferencia que presentan una excavación cóncava de algo más de 1 cm de diámetro en el centro de la lámina, en forma de pozuelo. se utiliza generalmente para la preparación de una técnica microbiológica mediante la que se determina microscópicamente si la bacteria en estudio es o no móvil.

CRISTALERIA DE MEDICIÓN:

Destinada al conocimiento y manipulación de magnitudes. Son utilizadas en el Laboratorio para conservar o trasegar (llevar de un lugar a otro) reactivos, muestras, soluciones y productos químicos así como para preparar soluciones y reactivos.

SEGÚN SU FUNCION LA CRISTALERIA DE MEDICION SE DIVIDE EN:

- **CRISTALERIA DE MEDICION VOLUMÉTRICA**
 - **CRISTALERIA DE MEDICION NO VOLUMÉTRICA**
- CRISTALERIA DE MEDICION VOLUMÉTRICA:**

En este grupo se encuentran los instrumentos de mayor aplicación e interés en el Laboratorio, a su vez los que mayor error por su uso incorrecto que induce en los resultados del trabajo.

Todas las unidades que constituyen este grupo de instrumentos de medición son calibradas a temperatura de 20⁰ c generalmente, lo que quiere decir que los volúmenes de líquidos que miden a esta temperatura pueden tomarse como de exactitud confiable.

TIPOS:

- **PIPETAS:** Tubos de vidrio recto, de longitud y grosor variable que se caracterizan por tener el extremo inferior ligeramente cónico. Se fabrican diferentes tipos para los diversos procedimientos de Laboratorio, siendo utilizadas básicamente para medir y/o transferir volúmenes exactos de líquidos.

Las más utilizadas son las 1, 2, 5, 10 ml, este tipo de pipeta tiene impreso en la parte superior un número que equivale a su capacidad volumétrica y a todo lo largo una escala graduada en ml, que indica numéricamente los espacios en que se divide el volumen total. Cada espacio a su vez se divide entre los espacios equidistantes que corresponden a las subdivisiones volumétricas.

Ejs: En una pipeta de 5 ml la escala queda entre 5 espacios iguales, cada uno equivale a 1 ml y éste a su vez se subdivide en 10 líneas correspondientes cada una a 0,1 ml.

Las pipetas serológicas son similares a las graduadas pero su capacidad es de 1 ml o menos estando divididas en 0,1 y/o 0,01ml.

Estas pipetas son **TD** (para entregar) son calibradas pesando el volumen de agua que entregan por vacío espontáneo debido a la fuerza de gravedad.

Al salir el líquido queda siempre una pequeña cantidad en la pipeta que no se debe soplar, pues este realmente no se tuvo en cuenta al hacer la calibración de la misma. Además de la velocidad de salida del líquido debe ser espontánea.

- **PIPETA DE SHALI:** Micropipeta con un capacidad de volumen de 0,02 ml, tiene forma de un tubo e cristal hueco, estrecho y alargado, que por uno de sus extremos termina en una punta y es por donde se introduce el líquido en la pipeta, por el otro lado el capilar se amplía y es por donde se realiza la aspiración.

Esta pipeta es **TC** (para contener) esta calibrada con mercurio por lo tanto hay que enjuagar su contenido en la solución diluyente.

MODO DE EMPLEO DE LAS PIPETAS:

- 1.- Sostener la pipeta con el dedo pulgar y medio e introducir la punta en el líquido y medir lo suficiente para evitar la aspiración de burbujas de aire utilizando una pera de goma.
- 2.- Aspirar el líquido con suavidad hasta sobrepasar ligeramente la marca deseada y cerrar el orificio superior con el dedo índice.
- 3.- Retirar el exceso de líquido del exterior con un paño, gasa o servilleta de papel limpio.
- 4.- Ajustar el volumen hasta exactamente la marca deseada apoyando la punta de la pipeta en la pared interna de frasco o tubo de ensayo, de donde se extrajo el líquido u otro cualquiera y moviendo el dedo índice suavemente, sin retirarlo del todo.
- 5.- Transferir la pipeta hasta el depósito receptor apoyando la punta contra la pared del tubo y NO contra el fondo.
- 6.- Retirar cuidadosamente el dedo del orificio superior, graduando la velocidad de salida de forma tal que la pipeta drene el tiempo necesario.

Es muy importante que todo el tiempo mantengamos la pipeta en posición perpendicular para que el drenaje sea adecuado.

Hacer la correcta observación de la lectura del menisco.

No medir los líquidos a temperaturas alejadas a la temperatura de calibración de la pipeta. (20° c)

La temperatura de calibración debe ser de 20° c y la misma se hace par establecer un volumen cualquiera en una pipeta graduada o establecer el factor de corrección.

- **PROBETAS:** Recipientes cilíndricos y alargados de vidrio, de diámetro y tamaño variables, en correspondencia con su capacidad volumétrica, con una base de cristal fundido al cilindro para mantenerlo exposición vertical, pueden tener o no tapa de cristal esmerilada o plástica, presentan en el borde un saliente (pico) que sirve para verter líquidos sin que se produzcan derrames. Generalmente son graduadas, se utilizan para medir volúmenes aunque NO debe utilizarse cuando se requiera gran exactitud.

- **MATRACES AFORADOS:** Se fabrican con cristal de alta calidad, tienen forma de pera con fondo plano y cuello largo y estrecho donde se encuentra la marca de calibración o **AFORO**, siempre están calibrados para contener, pueden tener o no tapas de cristal o plásticas. Se utilizan para la preparación de soluciones que requieran gran exactitud.
- **JERINGUILLAS (CRISTAL O PLÁSTICAS (DESECHABLES):** Cuerpo cilíndrico graduado en ml y un émbolo, su tamaño es variable: 2, 5, 10, 20 y 50 ml . Se usan para inoculación intradérmica, venosas, para extracciones de sangre y para repartir y dispensar disoluciones sin técnicas específicas.

LECTURA DEL MENISCO:

- El ojo (la pupila) debe formar **un plano horizontal con la señal de aforo** para evitar el error de paralaje
- Con **soluciones incoloras**, debe hacerse el **enrase por debajo** del mismo.
- Con **soluciones coloreadas y mercurio metálico** debe **hacerse por encima** del menisco.

La temperatura del líquido debe estar cerca de la utilizada en la calibración (20⁰ c) teniendo en cuenta que no debe diferir en más o menos 10⁰ c.

CRISTALERIA DE MEDICION NO VOLUMÉTRICA:

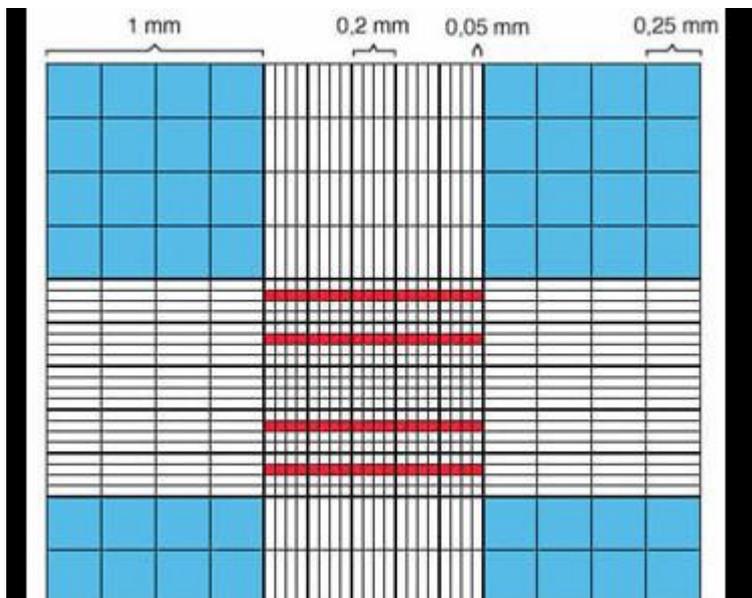
Se incluyen en este grupo aquellas unidades que no revelan magnitudes, que no expresan volúmenes, entre las más frecuentes tenemos: pipetas de Westergreen (calibrada para medir longitud y no valores, se utiliza para medir en mm la velocidad de sedimentación globular (de los eritrocitos), pipetas de Thomas (calibrada para realizar conteo global de eritrocitos (que ya no es una técnica que se realiza comúnmente en los laboratorios por la no precisión de la determinación, en forma manual, si se realiza donde existan equipos automatizados como el complejo hematológico y conteo global de leucocitos)

CAMARA DE NEUBAWER:

Son cámaras **para el recuento de células tanto en sangre como en orina** (eritrocitos, leucocitos, plaquetas y cilindros).

La cuadrícula de Neubauer consiste en un cuadrado de 3 x 3 mm (9 mm²) subdivididas en 9 cuadrados de 1 mm² cada una. **Los cuatro cuadrantes de las esquinas** están subdivididos en 16 cuadraditos con una medida de 0.25 x 0.25 mm y **se utilizan para el recuento de leucocitos**. El cuadrante central se encuentra dividido en 25 partes y cada una de ellas a su vez en 16 (0,05 x 0,05 mm), el número total de cuadraditos del mm central es de 400 y **se utilizan para el recuento de hematíes y plaquetas**. Además **se observan otros elementos como los cilindros (en las determinaciones de orina por cituria)**.

El tipo más usado consiste en una lámina gruesa, de cristal incoloro que tiene fijado en su tercio medio tres plataformas que la atraviesan por el eje más estrecho, una central y dos laterales. Las dos plataformas laterales sirven de soporte al cubrir objetos de la cámara y dejan un espacio entre las superficies de la plataforma central y del cubre de 0,1 mm, el espacio resultante se conoce como profundidad de la cámara, por lo tanto 0,1 mm es el factor de profundidad pero para convertirlo en 1mm³ hay que multiplicar 0,1 mm x 10 = 10 y éste es el factor de profundidad de la cámara.



LIMPIEZA DE LA CRISTALERIA:

La presencia de innumerables componentes orgánicos e inorgánicos presentes en la cristalería que han quedado como residuo del material orgánico procesado anteriormente (sangre, suero, plasma, etc) o del material inorgánico proveniente de los reactivos empleados, puede quedar adherido a las paredes de la cristalería, tales como: tubos de ensayo, pipetas, etc, pudiendo interferir en el ensayo analítico afectando la precisión y exactitud del mismo.

PROCEDIMIENTO PARA LA LIMPIEZA DE LA CRISTALERIA:

- 1.- Enjuague inmediatamente con agua cruda después de utilizarla (esto evita la desecación de sustancias en las paredes de la misma). Si los restos corresponden a sustancias orgánicas pasarle una solución de hipoclorito de sodio al 0,1% y volver a enjuagar con abundante agua corriente (cruda).
- 2.- Fregar con agua y detergentes (deben ser biodegradables o no iónicos, o de uso común) e hisopo hasta la eliminación de los residuos adheridos a la superficie.
- 3.- Enjuagar con abundante agua corriente hasta eliminar todo el resto de detergente.
- 4.- Enjuagar con agua destilada en 3 ó 4 recipientes y cambiar la misma cada cierto tiempo.
- 5.- Colocar la cristalería en cestas de aluminio para ser enviadas y llevadas al horno a secar.

Cuando es necesario se puede tratar la cristalería con solución sulfocrómica (4 a 24 h) para la total eliminación de los restos realizando después el fregado normal.

La cristalería destinada a la dosificación de Fe sérico debe tratarse con solución de ácido clorhídrico o ácido nítrico en lugar de solución sulfocrómica, realizando el enjuague final con agua desionizada, además no debe colocarse directamente en el cesto, debe empaquetarse con gasa para llevarla a secar.

Tema 5. Reactivos de Laboratorio.

Reactivos:

Sustancias químicas o compuestos biológicos específicos (antígenos, anticuerpos, enzimas, etc) o mezcla de ambos que se añaden a las muestras para producir una reacción capaz de determinar en ella una modificación tal que quede una señal medible.

En los laboratorios se utilizan reactivos de calidad analítica que se producen comercialmente con alto grado de pureza. En las etiquetas de los frascos se relacionan los límites máximos de impurezas permitidos por las especificaciones para la calidad del reactivo o los resultados del análisis para las distintas impurezas

TIPOS DE REACTIVOS SEGÚN GRADO DE PUREZA:

- ✓ **REACTIVOS PARA ANÁLISIS: (PA):** Aquellos cuyo contenido en impurezas no rebasa el número mínimo de sustancias determinables por el método que se utilice.
- ✓ **REACTIVOS PURÍSIMOS:** Con mayor grado de pureza que los reactivos “para análisis”.
- ✓ **REACTIVOS ESPECIALES:** Reactivos con calidades específicas para algunas técnicas analíticas, como: cromatografía líquida (HPLC), espectrofotometría (UV)...

ROTULADO. ALMACENAMIENTO:

La etiqueta que representa al reactivo, de acuerdo al fabricante, debe contener: Nombre del producto, Grado de pureza, Fórmula química, Símbolos de riesgo, Características de conservación, Número de lote, Fecha de vencimiento e identificación del fabricante.

ALMACENAMIENTO:

Se debe realizar cumpliendo estrictamente las indicaciones del fabricante.

Deben estar colocados en lugares frescos, ventilados, secos y generalmente no expuestos a la luz, aquellos que se conserven a temperatura ambiente (20 a

25⁰C) y los que necesariamente requieren temperaturas de refrigeración (0 a 4⁰C).

El sistema de **ROTACIÓN** se realiza con el movimiento de los mismos según consumo y fecha de vencimiento, evaluando los cambios físicos que puedan ocurrir (cambio de color, turbidez, formación de precipitados, etc) para la eliminación por deterioro.

El **PROGRAMA DE SUMINISTRO** depende del consumo promedio, realizando un control de éste sistemático (mensual) de acuerdo a las cifras disponibles, NO existiendo un exceso de los mismos. Si se debe trabajar con un excedente mínimo para poder abordar cualquier contingencia que pueda ocurrir.

En el trabajo del laboratorio, con reactivos, se deben tomar todas las **PRECAUCIONES NECESARIAS** para **EVITAR LA CONTAMINACIÓN ACCIDENTAL**, cumplimentando las siguientes reglas:

- ✓ Escoger el grado del reactivo apropiado para el trabajo a realizar, siempre que sea posible utilizando frascos de menor tamaño.
- ✓ Tapar inmediatamente el frasco una vez extraído el reactivo, evitando confusiones con otros frascos.
- ✓ Sujetar el tapón del frasco con los dedos, NUNCA debe dejarse sobre la superficie de trabajo.
- ✓ NO colocar los frascos destapados donde puedan ser salpicados con agua u otros líquidos.
- ✓ NUNCA devolver el exceso de reactivo o de disolución al frasco original.
- ✓ Mantener limpios y ordenados los estantes al igual que las balanzas, limpiando inmediatamente después de una salpicadura o derrame.
- ✓ Si la etiqueta original se deteriora ROTULAR la disolución o el reactivo.

Un reactivo, en Química, es toda sustancia que interactúa con otra en una reacción química, dando lugar a otras sustancias con propiedades, características y conformación distinta. Se denominan PRODUCTOS O PRODUCTOS DE REACCION.

Por tratarse de compuestos químicos los reactivos se clasifican según muchas variables: Propiedades físico- químicas, reactividad, características de uso.

LAS CARACTERÍSTICAS DE SU USO es la clasificación más adecuada, que viene dada en el envase del reactivo y depende del tratamiento que se le haya

dado, de su riqueza, de su pureza, que determina el uso químico que se le pueda dar, teniendo en cuenta la precisión, exactitud y error absoluto que se ha de tener en la operación química a realizar.

Por lo que podemos **CLASIFICAR LOS REACTIVOS** en:

PB: Destinados a Bioquímica.

PA: Destinados a aplicaciones analíticas

QP: Químicamente puro, destinado al uso general en laboratorio.

DC: Destinados a las aplicaciones del análisis clínico.

QUE PRODUCEN REACCIÓN: Sustancia que se emplea en Química para reconocer la naturaleza de ciertos cuerpos por medio de la acción que produce sobre ellos (es casi lo mismo que sustancia reactante (sustancia que participa en una reacción química produciendo otra u otras diferentes a la sustancia primitiva)).

NORMAS PARA EL CONTROL Y ALMACENAJE DE REACTIVOS EXPLOSIVOS:

Los **REACTIVOS EXPLOSIVOS** son los más peligrosos para el trabajo en el laboratorio, por lo que su control es extremadamente estricto.

Por su complejidad, son controlados por compañeros del Ministerio del Interior, que habilitan un libro, a controlar por un personal seleccionado, preferiblemente el Jefe de Servicio o Técnico o personal asignado por estos. Este libro recoge todas las características del reactivo explosivo, cantidades asignadas al Laboratorio, entrega y salida de los mismos con fecha, hora y cantidades. Su chequeo es sistemático por personal habilitado de la instancia superior (MININT), verificando, también, las condiciones de almacenaje, correspondiéndose con las indicaciones del fabricante en cuanto a temperatura, humedad, iluminación, registrándose los cambios que puedan sufrir (cambio de color, turbidez, formación de precipitados, etc) (Estos cambios se corresponden con los sufridos por lo reactivos en general)

JUEGO DE REACTIVOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO.

Desde hace más de dos décadas se han desarrollado **JUEGO DE REACTIVOS** para el trabajo en los laboratorios (Clínico y de Microbiología) haciendo más eficiente el trabajo y con menor rango de error, garantizando la

calidad de los resultados, siempre que se cumpla con lo estipulado por el fabricante en cuanto a uso, conservación, almacenaje y rotación de los mismos.

EJEMPLOS: Juego de reactivos para determinar: TGP, TGO, factor reumatoideo, creatinina, sueros hemoclasificadores para la determinación de grupos sanguíneos y factor RhD, determinaciones de transmisión sexual.

ANTICOAGULANTES. ACCIÓN QUE REALIZAN. VENTAJAS Y DESVENTAJAS:

ANTICOAGULANTES: Sustancias, generalmente sales, que impiden la coagulación de la sangre tanto in vivo como in vitro.

Entre los más utilizados encontramos:

- ✓ **HEPARINA:** Es un polisacárido sulfatado que tiene tanta acción in vivo como in Vitro, por lo que normalmente esta presente en la sangre e impide la conversión de protrombina en trombina.(actúa sobre los factores intrínsecos de la coagulación)

Se utiliza en concentración de 0,5 mg 0 50 unidades por mililitro de sangre. Se prepara una solución y se añade a los tubos la cantidad correspondiente, generalmente 2 gotas para 5 mL de sangre.

NO produce alteraciones morfológicas en los eritrocitos y mantiene intactas las plaquetas.

NO debe utilizarse para determinaciones de sodio (Na) pues la heparina sódica es la sal más común en el mercado.

- ✓ **ACIDO ETILENDIAMINOTETRACÉTICO (EDTA):** De uso común y muy barato. Actúa como quelante del calcio (Se combina con los iones positivos del Ca y forma complejos estables, desprovistos de toxicidad y de fácil eliminación por la orina) evitando la coagulación de la sangre.

Se utiliza en concentración de 1 mg/ml. Su preparación es similar a la de la Heparina

NO produce alteración en el volumen de los hematíes y conserva bien las plaquetas.

NO debe utilizarse en las determinaciones enzimáticas.

Es el anticoagulante más utilizado en las determinaciones inmunohematológicas.

- ✓ **OXALATOS O MEZCLA DE OXALATOS:** Primer anticoagulante utilizado en el trabajo de los laboratorios. Se puede utilizar de sodio o de potasio. Su acción es quelante. Como inconveniente tiene la producción de alteraciones en las células sanguíneas, por salida de líquido de éstas y su consiguiente disminución de volumen, también produce alteración de forma en las células así como dilución del plasma.

Existe una mezcla de oxalatos (oxalato de amonio, oxalato de potasio, formaldehído neutro y agua destilada) donde no se producen alteraciones del volumen de los eritrocitos ni de las constantes corpusculares.

- ✓ **CITRATO DE SODIO:** Es un agente quelante del calcio iónico. Se utiliza para realizar una determinación llamada Eritrosedimentación en una proporción de 0.5 mL para 2 ml de sangre o para la determinación del Tiempo de Protrombina en proporción de 0.5 ml para 4.5 ml de sangre.

Para la obtención de cantidades mayores de sangre, como ocurre durante las donaciones de sangre, utilizamos anticoagulantes con la misma acción (quelantes del calcio, evitan la formación de coagulos) aunque en mayores cantidades (63 ml para 450 – 550 ml de sangre) con actividad preservante y soluciones de rejuvenecimiento, entre ellos encontramos:

- ✓ **ACD:** Estándar en la década del 40. Compuesto por A: ácido cítrico (estabilizador del Ph) C:citrato de sodio (anticoagulante, previene la activación de la cascada de la coagulación mediante su unión al calcio) D: dextrosa

(favorece la producción de ATP)(aporta energía). Permite conservar la sangre durante 10/15 días

- ✓ CPD: En los años 50 (del siglo pasado, 1950) se adiciona una solución reguladora al ACD constituida por: C:citrato de sodio (anticoagulante, previene la activación de la cascada de la coagulación mediante su unión al calcio), P (solución reguladora de fosfato inorgánico para aumentar la producción de ATP incrementando la viabilidad de los eritrocitos) y D: dextrosa (favorece la producción de ATP). Este requiere menos ácido cítrico, pues el Ph es mayor, permitiendo que el 2,3 DPG (2,3 difosfoglicerato)(promueve la liberación de oxígeno de la Hb de los eritrocitos a los tejidos) se mantenga mejor durante el almacenamiento y NO se deplete (disminución) durante dos semanas. Conservación entre 15/21 días.
- ✓ CPDA: En la década del 70 se incorpora la adenina al anticoagulante en uso, suministra el sustrato a los eritrocitos para aumentar la producción de ATP, extendiendo el tiempo de conservación hasta 21/35 días.
- ✓ En la década de los 80 se introducen aditivos comerciales para los eritrocitos, incrementando el tiempo de conservación entre 35/42 días. La solución aditiva (SAG MANITOL) está compuesta por: S: solución salina al 0,9%, A: adenina (producción de ATP) y G: glucosa (producción de ATP), a altas concentraciones. Manitol (agente estabilizador de la membrana eritrocitaria)
Todas estas soluciones anticoagulantes preservantes permiten conservar la sangre a temperaturas entre 2 – 4°C.

En nuestro país se ha establecido por el programa nacional de sangre que toda la sangre independiente del anticoagulante empleado sea almacenada por un periodo de hasta 30 días, no por la calidad del preservante si no por no contar todos los centros asistenciales con el mismo nivel tecnológico.

COLORANTES. OBTENCIÓN CLASIFICACIÓN. TOXICIDAD DEL COLORANTE. VENTAJAS Y DESVENTAJAS

COLORANTES: Sustancias químicas o biológicas, generalmente tintes, pigmentos, reactivos u otros compuestos, empleados en la coloración de tejidos, microorganismos para exámenes microscópicos, debiendo tener, al menos, un grupo cromóforo (compuesto químico que permite la coloración de una sustancia), que le proporcione la propiedad de teñir.

FUENTES DE OBTENCION:

Se clasifican en:

NATURALES Son básicamente histológicos (tejidos orgánicos), encontrándose entre ellos: índigo, carmín, orceína y tornasol, hematoxilina

SINTÉTICOS Se obtienen del alquitrán de hulla siendo todos derivados del benceno y tienen mayor poder de tinción y un espectro de color más amplio que los naturales.

CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES:

Teniendo en cuenta la composición química se pueden dividir en tres grupos:

- ✓ **BASICAS (CATIONICAS):** LA BASE O EL CATION es la que contiene la sustancia colorante. Tiñen los núcleos, basofílicos y las bacterias.(Fucsina básica)
- ✓ **ACIDAS (ANIONICAS):** EL ÁCIDO O ANION contiene la sustancia colorante. Tiñen el citoplasma difusamente y tienen afinidad por los gránulos acidófilos. (Acido pícrico y Ponceau S.)
- ✓ **NEUTROS:** Son el producto de la unión de una base colorante y un ácido colorante, donde el precipitado resultante es soluble exclusivamente en alcohol. (Giemsa)(combinación de colorantes azul y rojo de los grupos tiazina y eosina)

METODOS DE COLORACION:

- ✓ **COLORACION VITAL:** Aplicado a los tejidos vivientes.
(Azul brillante cresil - Conteo de Reticulocitos)

- ✓ **COLORACION RUTINARIA:** Coloración de información general o rutina. Se tiñen varios elementos con poca diferenciación excepto entre núcleo y citoplasma. Se demuestra la relación entre células, tejidos y órganos. (Hematoxilina y Eosina) (Giemsa)
- ✓ **COLORACION ESPECIAL:** Es selectiva, de alcance más limitado, Demuestra características especiales del tejido como: bacterias, hongos, estructuras microscópicas, intra y extracelulares (Feulgen).(Azul de Prusia)

TOXICIDAD DEL COLORANTE. VENTAJAS Y DESVENTAJAS:

Los colorantes son sustancias tóxicas por lo que el proceso de tinción resulta generalmente letal para los microorganismos, provocando su inmovilización, significando una ventaja o desventaja para el investigador según sean los objetivos con la sustancia colorante.

EJEMPLOS:

1.- Al ocasionar la muerte de los microorganismos sometidos al proceso de tinción, se reducen las posibilidades de contaminación para el manipulador

2.- Algunos colorantes conservan las características de las células según se encuentran en nuestro organismo (Coloraciones supravitales)

3.- Algunos colorantes tienen efecto letal para determinadas especies o géneros bacterianos, siendo utilizados como constituyentes de medios de cultivo selectivo para impedir el desarrollo de microorganismos indeseables y favorecer el desarrollo de las especies que nos interesa estudiar.

Ej: Verde malaquita.

4.- Los colorantes pueden ser tóxicos para el manipulador, resultando algunos cancerígenos, siendo necesario retirarlos del mercado.

5.- Si no se emplean en las proporciones exactas interfieren en la identificación celular.

Clasificación de los Colorantes:

GRUPO	SUBGRUPO	COLORANTE
QUINONIMINA	TIACINA ACINAS	AZUL DE METILENO, TOLUIDINA. ROJO NEUTRO, SAFRANINA C, NIGROSINA.
FENILMETANO	DIAMINOTRIFENILMETA- NO	VERDE MALAQUITA, VERDE BRILLANTE, VIOLETA CRISTAL.
XANLEIRO	FLUORANA SULFONSFTALEINA	EOSINA B e Y, MERCURO CROMO, ROSA DE BENGALA AZUL BROMOFENOL, VERDE BROMOCRESOL, AZUL DE BROMOTIMOL, ROJO CRESOL, FENOLFTALEINA, ROJO FENOL, AZUL TIMOL ACRIFLAVINA, NARANJA DE ACRIDINA

COLORANTES	
ACIDOFILICOS	Azul de anilina, Biebrich scarlet R., Rojo Congo, Eosina Y, Azul metilo, Orange G, Floxina, Ácido Pícrico, Ponceau S, Light green, etc.
BASOFILICOS	Rojo neutro, Fucsina básica, Verde malaquita, Verde metilo, Safranina, Cresil violeta, Violeta metilo, Sulfato azul del Nilo, Azul de metileno, Safranina O, etc.
SOLUBLES EN GRASAS	Oil red O, Scarlet B, Sudán II, III, IV, Sudán black B.
METACROMÁTICOS	Azure A, Azure B, Azure C, Fucsina básica, Azul de metileno, Violeta metilo, Cristal violeta, Tionina, Azul de toludina, etc.

MEDIOS DE CULTIVO:

Compuestos o preparaciones alimenticias, elaboradas en los laboratorios de Microbiología, con los nutrientes requeridos para cada género en particular, simultaneando con las condiciones ambientales adecuadas para favorecer su

desarrollo, estableciendo el micromundo de los microorganismos en condiciones de laboratorios.

Para que un medio de cultivo resulte eficaz sus componentes deben responder a condiciones nutricionales de las especies que se pretendan cultivar. Existe una amplia variedad de medios de cultivo, debido a las diferencias existentes en los elementos constitutivos de cada género o especie (actividades metabólicas y mecanismos para obtener los nutrientes).

TIPOS DE MEDIO DE CULTIVO:

Se **CLASIFICAN** en:

➤ **ATENDIENDO A SU COMPOSICIÓN:**

Se clasifican a su vez en:

SIMPLES: La proporción exacta de nutrientes es desconocida por ser muy variable.

Se utilizan de forma natural, tal y como se encuentran en la Naturaleza, siendo imposible preparar dos lotes a fin con productos iguales de distinta procedencia. Ejs: leche, carne, vegetales, etc.

Cuando un medio natural sufre proceso de modificación, sometido a proceso de cocción para obtener caldo nutritivo pierde la condición de medio simple natural convirtiéndose en medio simple artificial.

SINTÉTICOS: Compuestos por conjunto de nutrientes definidos a proporciones constantes, permite reproducirlo en cualquier otro lote con exactitud.

En la actualidad existen más de un centenar de diferentes medios sintéticos. Ejs: Agar Saboraud, Agar SS, Kligler, etc. Se comercializa por empresas cubanas y extranjeras, en forma deshidratada

VIVOS: Constituidos por animales o capas de tejido utilizados para cultivo de virus y rickettsias, que no se desarrollan en medios sintéticos o simples (por requerir la presencia de células vivas para reproducirse)(parásitos intracelulares obligados)).Ejs: hámster jóvenes, ratones blancos lactantes, huevos de gallina con embrión entre 7 y 10 días.

NO tiene utilidad en el cultivo de bacterias y hongos.

➤ **ATENDIENDO A LOS OBJETIVOS DE SU EMPLEO:**

MEDIOS DE ENRIQUECIMIENTO: Generalmente líquidos, su propósito es favorecer el desarrollo de una especie determinada, compensando los requerimientos nutricionales del germen en estudio y no favoreciendo las

necesidades esenciales del resto. Ejs: Caldo de Selenito en investigación de coprocultivo, desarrollo de Salmonella dificultando al mismo tiempo el de otras bacterias entéricas predominantes en el bolo fecal.

MEDIOS DE AISLAMIENTO: Resultan específicos para un solo tipo de germen, no desarrollando ninguna de las otras especies, por las características del medio. Ej: Medio "Chapman" (Agar Manitol Salado) CINa a elevada concentración facilita el desarrollo de estafilococos (se desarrollan y multiplican en medio salino).

MEDIOS DIFERENCIALES: Puede desarrollar diferentes especies microbianas sin dificultad utilizando las reacciones bioquímicas que generan su actividad metabólica para diferenciarlas. Ej: Medio Kligler utilizado en la investigación de enterobacterias, después de 16 horas de incubación se denota cambio de color.

➤ **CONSISTENCIA DE LOS MEDIOS DE CULTIVO:**

LA **CONSISTENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO** SE LOGRA CON LA ADICIÓN A LA FÓRMULA DE UN COMPUESTO DENOMINADO AGAR. (En Malayó significa jalea) (Sustancia mucilaginosa obtenida de algas de color purpúreo). Son procesadas industrialmente y comercializadas de forma deshidratada.

Se clasifican en:

MEDIOS LÍQUIDOS: Son trabajados en forma de caldo, NO contienen agar

MEDIOS SEMISÓLIDOS: Contiene un % de agar menor que el utilizado en medios sólidos, facilitando la migración de sustancias y movilidad de los gérmenes.

MEDIOS SÓLIDOS: Contienen alrededor del 1,5 % de agar, cantidad suficiente para gelificar el medio, impidiendo la migración de microorganismos en el cultivo, multiplicándose en un mismo sitio, con cúmulo de estructuras macroscópicas denominadas COLONIAS.

Cada género y especie producirá un tipo de colonia mostrando diferentes formas, aspectos y tamaños.

LA CANTIDAD DE AGAR AÑADIDA AL MEDIO ES DIRECTAMENTE PROPORCIONAL AL GRADO DE SOLIDEZ QUE ADQUIERE EL MISMO.

Los ingredientes con que se elaboran los medios de cultivo deben responder a las necesidades específicas de la especie que deseamos se desarrolle.

FUENTES A PARTIR DE LAS QUE SE PUEDEN ELABORAR MEDIOS DE CULTIVO:

- ✓ **EL SOLVENTE DE TODOS LOS MEDIOS DE CULTIVO ES EL AGUA**, siendo la principal FUENTE DE OBTENCIÓN DE OXÍGENO E NITRÓGENO, mediante su ionización.
- ✓ **CARBONO**: Las formas aprovecharlo van desde el CO₂ atmosférico hasta complejas formas orgánicas.
- ✓ **NITRÓGENO**: Obtenido de proteínas y derivados, como: peptonas, urea, compuestos amoniacales y fuentes inorgánicas como el nitrato.
- ✓ **IONES ORGÁNICOS**: Obtenidos de la materia orgánica que compone el medio de cultivo. Ej

Azufre: grupos sulfhídricos de las proteínas, específico de los aminoácidos presentes en nucleótidos y ácidos nucleicos.

ELABORACION DE MEDIOS DE CULTIVO:

Procedimiento fácil que su calidad depende del cumplimiento estricto de las reglas establecidas atendiendo a las particularidades de cada uno.

La premura y obviar requisitos pre establecidos, conspiran contra la mala elaboración del medio, teniendo en cuenta además del gasto económico (son importados) la no confiabilidad de la Institución, provocando demoras evitables en el tratamiento del paciente.

- 1.- Localizar formulario existente en el laboratorio (fórmula del medio que se desea preparar)
- 2.- Seleccionar los componentes del medio, cerciorándose de la fecha de caducidad y sin cambios organolépticos (resequedad, cambios de color, hidratación precipitación, etc)
- 3.- Pesar por separado cada producto, empleando la balanza adecuada.
- 4.- Medir con precisión los productos líquidos a volúmenes exactos.
- 5.- Medir en probeta graduada el agua destilada a emplear garantizando pH y conductividad adecuada.
- 6.- Vierta en erlenmeyer, matraz, etc, las 3/4 partes del volumen de agua y colóquela al calor con el objetivo de tibar la misma.

7.- Retire de la fuente de calor y colóquela sobre la mesa de trabajo.

8.- Adicione el agua tibia a los compuestos medidos y pesados previamente, en el orden establecido en la fórmula, dando en cada ocasión rotación al frasco para la mezcla de los ingredientes.

9.- Si quedase algún residuo en la cristalería donde fue medido o pesado, enjuagar con el agua que queda en la probeta, añadiendo ésta al resto del medio para no alterar la fórmula estipulada y completar el volumen previsto.

10.- Si los componentes no quedan disueltos someter nuevamente al calor e imprimir movimientos de rotación. Si las paredes del recipiente presentan gránulos aún no se ha disuelto la mezcla del medio de cultivo.

Algunas empresas comercializan los medios de cultivo en forma deshidratada (pulverizados), contienen la totalidad de los ingredientes y evitan tener que pesar o medir cada componente. Debe evitarse el recalentamiento excesivo pues provocaría caramelización de los azúcares y deterioro de compuestos nutritivos básicos.

DISTRIBUCIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO:

Los que serán trabajados en tubos de ensayo, distribuidos con pipetas, a volumen determinado, antes de su esterilización.

Los distribuidos en placas de Petry se esterilizan en erlenmeyer taponeado con algodón y retapado con papel de estrasa,, siendo distribuido en placas con posterioridad. Cuando el medio de haya solidificado, se coloca en la parrillas del refrigerador.

Si el medio es distribuido en tubos con tapa de rosca deben quedar flojas durante la esterilización, para permitir el flujo de aire, siendo apretadas al concluir la misma.

Ej: En la preparación del medio de cultivo Agar Sangre debe esperarse a que la temperatura descienda entre 45 y 50⁰C para adicionar el volumen de sangre, vertiéndola poco a poco e imprimiendo movimientos de rotación para asegurar la aereación adecuada de la sangre.

NOTA: Medios de cultivo elaborados con hidratos de carbono u otros elaborados con suero, NO deben ser sometidos a esterilización en autoclave, pues se deterioran.

Evitar refundir pues en la medida que esto ocurra se hacen más propensos a la precipitación y disminuyen su potencial nutricional.

CONSERVACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO:**COMERCIALES:**

Los frascos que contienen medios de cultivo nuevos deben ser ordenados en estantes por lotes y fecha de vencimiento. Y almacenados en lugares frescos, lejos de ventanas y aparatos térmicos.

Una vez abierto el frasco se debe escribir en la etiqueta fecha de apertura, para conocimiento de todos que el mismo está en uso.

ELABORADOS:

Serán conservados atendiendo al medio que se trate.

SABOREAUD: Colocado en gradillas y mantener a temperatura ambiente hasta su uso.

PLACAS DE PETRI: Colocar tan pronto se haya solidificado, boca abajo en las parrillas del refrigerador.

LOS QUE CONTIENEN COLORANTES O INDICADORES: Proteger de la luz durante el almacenamiento.

LOS QUE CONTIENEN PROPIEDADES REDOX: Se debe colocar en la parrilla del refrigerador.

La comprobación de la esterilidad del medio de cultivo se realiza seleccionando dos o tres tubos o placas, colocándolas en la incubadora de 24 a 48 horas.

Los medios conservados en refrigeración deben extraerse horas antes e incubarlos durante 30 minutos antes de su empleo, al evadir este paso se demora la iniciación de crecimiento, al ser colocado el inóculo en una superficie fría.

El agua de condensación y opacidad que se produce en medios conservados en tubos al sacarlos de su almacén frío y colocarlo a temperatura ambiente, facilita la contaminación.

NO se deben preparar medios en exceso pues largos periodos de almacenamiento resecan imperceptiblemente y ocasiona reacciones inexactas y fallas en el crecimiento.

SUSTANCIAS DESHIDRATADAS:

La **DESHIDRATACIÓN** es la remoción (exclusión) del agua libre en los tejidos fijados. Universalmente obtenida por el uso de diluciones graduadas de alcohol etílico (70 al 95% o absoluto), en laboratorios de patología rutinaria. Se debe realizar gradualmente, los tejidos llevados del agua o solución acuosa a alcohol concentrado o viceversa, sufren la deformación de elementos hísticos.

Las altas concentraciones de alcohol (+ 80%) hacen al tejido quebradizo y difícil de cortar. En bajas concentraciones (menor de 70%) macera los tejidos.

El tiempo de deshidratación total depende del volumen y tipo de tejido, en particular el grosor del bloque de tejido (Grosor óptimo 0,5 cm)

DESHIDRATADORES MÁS UTILIZADOS EN HISTOPATOLOGÍA:

ALCOHOL ETÍLICO: NO TÓXICO. Confiable. Actúa rápido.

ALCOHOL METÍLICO: TÓXICO. Primariamente empleado para preparaciones de frotis e improntas de sangre y tejidos.

ALCOHOL ISOPROPÍLICO: Excelente sustituto del alcohol etílico. Miscible con agua, xilol, cloroformo, alcohol, éter y aceite de cedro.

ALCOHOL BUTÍLICO: Recomendado su utilización en microtécnicas en animales y plantas. Su poder deshidratador es bajo, requiere largos períodos de inmersión. Miscible con la parafina.

ACETONA: Se mezcla con la parafina en baja proporción

DIOXAN: Deshidrata directamente desde el agua, miscible con la parafina. Largos periodos de inmersión NO alteran los tejidos. Algo TÓXICO.

SUSTANCIAS DESALCOHOLIZADORAS:

Cuando se utiliza el alcohol absoluto como la sustancia deshidratadora final, el tejido debe ser **desalcoholizado** (generalmente en xilol) antes de la infiltración con parafina. Por tanto,

DESALCOHOLIZACIÓN: Extracción de alcohol previo a la infiltración de parafina.

ACLARAMIENTO: Hacer transparentes los elementos hísticos.

Aunque a menudo el mismo reactivo se utiliza para ambos propósitos.(**DESALCOHOLIZACIÓN y ACLARAMIENTO**), **NO** todos los agentes desalcoholizadores pueden ser utilizados como aclaradores y **NO** todas las

sustancias aclaradoras son solventes en resinas usadas como medio de montaje.

Se debe mezclar fácilmente con el alcohol y también ser solvente de la parafina, facilitando la penetración de este medio de infiltración.

Durante la infiltración y el montaje, el aclaramiento sirve para propósitos, ligeramente diferentes:

INFILTRACION: Se aclara el tejido después de la deshidratación con alcohol.

MONTAJE: Se aclara después que los cortes histológicos han sido teñidos y deshidratados.

AGENTES ACLARADORES:

XILOL: Comúnmente usado. Se utiliza para aclarar tanto en el proceso de infiltración como en el montaje. El tratamiento prolongado en el proceso de infiltración endurece demasiado los tejidos. Miscible con la parafina.

BENZOL: Penetra y aclara los tejidos rápidamente. Tiene inconveniente de que se evapora del baño de parafina rápidamente. La exposición excesiva puede dañar la médula ósea y puede ser cancerígeno.

CLOROFORMO: Aclara los tejidos en el proceso de infiltración. Le toma más tiempo para aclarar los tejidos, pues penetra más lentamente. NO hace quebradizo el tejido pero produce algún endurecimiento. NO es inocuo su uso debe evitarse.

TOLUOL: Aclara más lento que el XILOL y CLOROFORMO. NO endurece los tejidos. Miscible con la parafina. Se utiliza para aclarar durante la infiltración y el montaje.

MORDIENTES:

Fijan el colorante fuertemente al tejido, pudiendo ser aplicado al tejido antes de ser teñido (fijación con mercurio o con ácido pícrico). Existen colorantes que necesitan de un mordiente para que el tejido lo acepte y en otros casos se utiliza para lograr una coloración más específica.

Las sales de la mayor parte de los metales se utilizan como **MORDIENTES**, entre ellas: mercurio, cromo, aluminio, hierro.

Ej: La hematoxilina y el carmín se combinan con sales de hierro y aluminio para emplearlas en coloraciones histológicas.

MEDIOS DE INCLUSIÓN:

Para poder tomar los cortes histológicos, después de someter a aclaramiento los tejidos, es necesario infiltrar o incluir, contando con medios como la parafina y la celoidina, que sirven de soporte para mantener células y estructuras intercelulares en propia relación unas con otras. (los tejidos no son tan firmes para permitir el corte sin presencia de un soporte o sostén)

LOS MEDIOS DE INCLUSIÓN es la designación de los materiales a utilizar para sostener y rodear las muestras que han de ser seccionadas en cortes finos, por lo que deben ser capaces de pasar fácilmente de la forma líquida a la sólida; esta conversión puede ser llevada a cabo mediante la cristalización (parafina), evaporación de los solventes (celoidina) o por polimerización (plásticos).

La **PARAFINA** sustancia sólida a temperatura ambiente, que el calor convierte en líquida o fluida capaz de penetrar o infiltrar los tejidos (la dureza de la parafina debe corresponderse con la dureza de los tejidos en la infiltración) y se selecciona según sea la temperatura a que serán cortados los bloques de tejidos.

La **PARAFINA BLANDA** (bajo punto de fusión 45-50⁰C) teniendo como VENTAJA un grano más fino y de ser menos quebradiza con la DESVENTAJA de que sólo puede ser utilizada a temperaturas frías.

La **PARAFINA DURA** (punto de fusión 56-62⁰C) suministra mejor apoyo o sostén y permiten obtener cortes más finos, adecuada para la temperatura del laboratorio. ES LA PREFERIDA EN EL TRABAJO RUTINARIO.

VENTAJAS DE LA PARAFINA:

- ✓ Se pueden obtener cortes histológicos muy finos.
- ✓ Procesamiento rápido.
- ✓ Consigue cortes histológicos seriados.
- ✓ Almacenada por tiempo indefinido.

DESVENTAJAS:

- ✓ Muy caliente pone vidriosa, quebradiza a la muestra destinada para el corte.
- ✓ El tratamiento prolongado produce arrugas y endurecimiento de tejido.
- ✓ Un tiempo largo de inmersión (tejidos difíciles de infiltrar: huesos, dientes, ojo, cerebro y que se rompen a la hora del corte, si no se alarga este tiempo)) produce distorsión hística producida por el calor.

- ✓ La infiltración elimina las grasas, los deshidratantes y aclaradores son disolventes de las mismas.

EXTRACTOS BIOLÓGICOS A PARTIR DE LAS CUALES SE OBTIENEN LAS VACUNAS.

La **vacuna** (del latín "vaccinus-a-um", "(vacuno)"; de "vacca-ae", "vaca") es un preparado de antígenos que una vez dentro del organismo provoca la producción de anticuerpos y con ello una respuesta de defensa ante microorganismos patógenos. Esta respuesta genera, en algunos casos, cierta memoria inmunitaria produciendo inmunidad transitoria frente al ataque patógeno correspondiente. La primera vacuna descubierta fue la usada para combatir la viruela por Edward Jenner en 1796.^[1]

Las vacunas se clasifican en dos grandes grupos:

- Vacunas vivas o atenuadas
- Vacunas muertas o inactivadas.

Existen varios métodos de obtención:

1. Vacunas avirulentas preparadas a partir de formas no peligrosas del microorganismo patógeno.
2. Vacunas posificadas a partir de organismos muertos o inactivos.
3. Antígenos purificados.
4. Vacunas genéticas.

Las vacunas se administran por medio de una inyección, o por vía oral (tanto con líquidos como con pastillas).

Tipos de vacunas

Las vacunas pueden estar compuestas de bacterias o virus, ya sean vivos o debilitados, que han sido criados con tal fin. Las vacunas también pueden contener organismos inactivos o productos purificados provenientes de aquellos primeros. Hay cuatro tipos tradicionales de vacunas:

- **Inactivadas:** microorganismos dañinos que han sido tratados con productos químicos o calor y han perdido su peligro. Ejemplos de este tipo son: la gripe, cólera, peste bubónica y la hepatitis A. La mayoría de estas vacunas

suelen ser incompletas o de duración limitada, por lo que es necesario más de una toma.

- **Vivas atenuadas:** microorganismos que han sido cultivados expresamente bajo condiciones en las cuales pierden sus propiedades nocivas. Suelen provocar una respuesta inmunológica más duradera, y son las más usuales en los adultos. Por ejemplo: la fiebre amarilla, sarampión o rubéola (también llamada sarampión alemán) y paperas.
- **Toxoides:** son componentes tóxicos inactivados procedentes de microorganismos, en casos donde esos componentes son los que de verdad provocan la enfermedad, en lugar del propio microorganismo. En este grupo se pueden encontrar el tétanos y la difteria.
- **Subunitarias:** introduce un microorganismo atenuado o inactivo, dentro del sistema inmunitario, para crear una respuesta inmunitaria. Un ejemplo característico es la vacuna subunitaria contra la hepatitis B, que está compuesta solamente por la superficie del virus (superficie formada por proteínas).

La vacuna contra la tuberculosis por ejemplo, es la llamada vacuna BCG (Bacilo de Calmette y Guerin, que debe su nombre a sus descubridores) se fabrica con bacilos vivos atenuados y por tanto no es contagiosa de esta enfermedad.

Hoy día se están desarrollando y probando nuevos tipos de vacunas:

- **Conjugadas:** ciertas bacterias tienen capas externas de polisacáridos que son mínimamente inmunitarios. Poniendo en contacto estas capas externas con proteínas, el sistema inmunitario puede ser capaz de reconocer el polisacárido como si fuera un antígeno (un antígeno puede ser una proteína o un polisacárido). Este proceso es usado en la vacuna *Haemophilus influenzae* del tipo B (también conocido como bacilo de Pfeiffer).
- **Vector recombinante:** combinando la fisiología (cuerpo) de un microorganismo dado y el ADN (contenido) de otro distinto, la inmunidad puede ser creada contra enfermedades que tengan complicados procesos de infección.
- **Vacuna de ADN:** vacuna de desarrollo reciente, es creada a partir del ADN de un agente infeccioso. Funciona al insertar ADN de bacterias o virus dentro de células humanas o animales. Algunas células del sistema inmunitario

reconocen la proteína surgida del ADN extraño y atacan tanto a la propia proteína como a las células afectadas. Dado que estas células viven largo tiempo, si el agente patógeno (el que crea la infección) que normalmente produce esas proteínas es encontrado tras un periodo largo, serán atacadas instantáneamente por el sistema inmunitario. Una ventaja de las vacunas ADN es que son muy fáciles de producir y almacenar. Aunque en 2006 este tipo de vacuna era aún experimental, presenta resultados esperanzadores.

Es importante aclarar que, mientras la mayoría de las vacunas son creadas usando componentes inactivados o atenuados de microorganismos, las vacunas sintéticas están compuestas en parte o completamente de péptidos, carbohidratos o antígenos. Estas sintéticas suelen ser consideradas más seguras que las primeras.

Tema 6. Equipos e instrumentos de laboratorio.

MICROSCOPIO:

MICRO: PEQUEÑO **SCOPIO:** EXAMINAR O VER

Aparato óptico o electrónico mediante el cual podemos observar y obtener elementos no visibles al ojo humano logrando una imagen agrandada hasta ciertos límites de acuerdo con determinados factores.

Instrumento con alto poder resolutivo que facilita la observación de microorganismos, células, tejidos al proporcionar imagen aumentada.

TIPOS:

Se fabrican dos tipos: **ÓPTICOS Y ELECTRONICOS.**

Los microscopios **ÓPTICOS** se clasifican en: **SIMPLES Y COMPUESTOS.**

- **SIMPLES:** Formados por una sola lente convergente. Limitada capacidad de ampliación. La imagen se observa siempre derecha Ej: lupas.
- **COMPUESTOS:** Conocidos como **MICROSCOPIOS CLÍNICOS.** Funcionan por la combinación de varias lentes que al unirse con una fuente luminosa forman un sistema óptico. Son capaces de aumentar notablemente la imagen de los objetos observados.

Dentro de estos están diseñados los microscopios **MONOCULARES** (UNA SOLA LENTE OCULAR Y UN SOLO LENTE OBJETIVO) Y **BINOCULARES** (DOS LENTES OCULARES Y VARIOS LENTES OBJETIVOS)

OTRAS VARIANTES DE MICROSCOPIOS:

- Microscopía de campo oscuro.
- Microscopía de contraste de fase.
- Microscopía electrónica.

Existe otro tipo de microscopio que difiere del microscopio óptico convencional, no solo en diseño también el poder de aumento y finalidad de empleo y recibe el nombre de **MICROSCOPIO ESTEREOSCÓPICO**.

PARTES:

- El **SISTEMA MECÁNICO** consta de las siguientes partes:
 - ✓ **Base o pie**
 - ✓ **Brazo**
 - ✓ **Tubo óptico**
 - ✓ **Revolver portaobjetos**
 - ✓ **Platina**
 - ✓ **Tornillos**

BASE O PIE: Es la parte que queda en contacto con la superficie de la mesa de trabajo, su fondo plano proporciona estabilidad y aminora los efectos de vibraciones, que causan distorsiones en la observación, Sirve de sostén del resto de las partes del microscopio.

BRAZO: Columna sólida que se haya articulada a la base, por su extremo inferior, formando una inclinación con ángulo de 90^0 , en dirección frontal. Articula con el tubo óptico en la parte superior y la porción media brinda asiento al extremo posterior de la platina.

TUBO ÓPTICO: Tubo cilíndrico en cuyo extremo superior se sitúan las lentes oculares y en la inferior los lentes objetivos, acoplado al revolver del portaobjetos..

REVOLVER PORTAOBJETOS: Disco plástico o metálico que se encuentra atornillado por su eje a una pieza que rodea al tubo óptico denominado fusil, provisto de una superficie giratoria que contiene 3 o 4 orificios con rosca donde se insertan los lentes objetivos cuya secuencia será de menor a mayos potencia de aumentos.

PLATINA: Doble plataforma metálica, de color negro o gris, de aspecto mate. Presenta en su porción central un orificio circular, por donde pasa la luz, procedente de la fuente luminosa.

Esta provista de pinzas para sujetar las láminas portaobjetos que contienen la preparación a observar. Generalmente presentan aditamentos que permiten realizar movimientos frontal y lateral del porta objeto, mediante un sistema de cremalleras y dos tornillos.

TORNILLOS: Provistos de tres tornillos además: Macrométrico, micrométrico y elevador del condensador

- **Macrométrico y Micrométrico:** Atraviesan el brazo de lado a lado, el que esta ubicado en la parte superior es el **MACRO** y en la parte inferior el **MICRO**. Proporcionan movimientos lentos del tubo óptico logrando **nitidez en el enfoque**.
- **Elevador del condensador:** Situado debajo de la platina. Se utiliza para subir o bajar el condensador según sean los requerimientos de iluminación.

El **SISTEMA OPTICO** consta de las siguientes partes:

- ✓ Lentes oculares.
- ✓ Lentes objetivos.
- ✓ Condensador.
- ✓ Diafragma.
- ✓ Espejo.
- ✓ Fuente de luz.
- ✓ Filtros.

LENTEs: Discos pulidos y transparentes, siendo al menos una de sus superficies convexa proporcionando un aumento de tamaño del objeto observado.

Existen **lentes oculares** y **lentes objetivos**.

- **Lentes oculares:** La tapa tiene grabado un número seguido de una " X" que indica el poder de ampliación. Ej: 10 x aumenta virtualmente el tamaño real del objeto en una imagen 10 veces mayor. Las lentes oculares que se utilizan con mayor frecuencia proporcionan los siguientes aumentos 6x, 8x, 10x, 12x y 15X. Tiene como función la ampliación virtual y corregir las aberraciones cromáticas.
- **Lentes objetivos:** Constituyen la parte más importante del sistema óptico, ya que por su poder de resolución es posible observar separados dos objetos microscópicos muy próximos entre sí.

Poseen pequeño diámetro debido a que mientras más pequeño sea su diámetro mayor será la capacidad de ampliación. Pueden ser colocados en uno de los orificios del revolver porta objetos.

DIFERENTES TIPOS DE LENTES OBJETIVOS:

- ✓ **OBJETIVOS SECOS (10, 20 Y 40):** Alcanzan la distancia focal varios cms por encima de la preparación, quedando un espacio de aire entre la lámina cubre objetos y la lente. Se fabrican con diferentes potencias de aumento.

El de menor aumento (6x), el más corto, permite la observación de un área extensa de la preparación, por lo que se le conoce como lente explorador. Por su baja potencia NO se observan bacterias, protozoarios y microorganismos de pequeñas dimensiones.

Los lentes de 10x y 20x son más largos, proporcionan aumento mayor aunque NO la total nitidez para la observación de microorganismos muy pequeños (bacterias) si pudiendo observar huevos de helmintos y otros elementos de interés de tamaño similar.

El lente de 40x, es el más largo, abarca un área más reducida de la preparación pero proporciona aumento suficientemente amplio, permitiendo la observación detallada de algunos microorganismos (protozoarios y hongos, huevos y larvas de helmintos, células y otros elementos de interés y tamaño similar). Todavía insuficiente para la observación de las bacterias.

- ✓ **OBJETIVOS DE INMERSIÓN (100):** Se diferencia de los lentes objetivos secos por ser más largo y tener, generalmente, una franja de color negro a su alrededor, así como unas siglas grabadas (HI (Homg Inmersión) ó OI(Oil Inmersión)) y su potencia de aumento (90x a 100x). Cuando se emplean estos lentes se debe colocar sobre la preparación una gota de un líquido (aceite de cedro, anteriormente pero daña las lentes con el decursar del tiempo, en estos momentos se utiliza **aceite de inmersión**) cuyo índice de refracción (1.52) sea más elevado que el del aire, próximo al vidrio de la lente y que no dañe las mismas. Tiene como función formar la imagen del objeto observado y ampliarla virtualmente de acuerdo a su potencia de aumento.

- **CONDENSADOR:** Dispositivo formado por un sistema de dos lentes situado entre el espejo o fuente de luz y la superficie inferior de la platina.

Tiene como **función** refractar los rayos luminosos formando un cono de luz en cuyo vértice se intensifica un foco luminoso.

Su colocación cerca de la cara posterior del portaobjetos logra una mayor iluminación, ya que reduce la divergencia de los rayos de luz.

- **DIAFRAGMA DE IRIS:** Accesorio del condensador con un aspecto de abanico plegable que se encuentra acoplado en el extremo del orificio posterior del condensador, debajo de la lente cubriendo todo el diámetro. Se utiliza para regular la cantidad de rayos luminosos que deben pasar al interior del condensador.
- **ESPEJO:** Es circular y consta de dos espejos adosados uno tiene la superficie plan y el otro convexa. La superficie plana se utiliza cuando la fuente de luz a utilizar es natural, utilizando la convexa cuando se emplea iluminación artificial
- **FUENTE DE LUZ:** Proporcionan la luz monocromática de corta longitud de onda. Se encuentra acoplada en la base del microscopio. Optimiza el empleo de la iluminación.
- **FILTROS:** Dispositivos de vidrio, esféricos, planos y transparentes con un determinado color. Tiene como función absorber las longitudes de onda de diferentes colores, proporcionando una luz para que mejore la observación microscópica.

Los **PRINCIPIOS BÁSICOS** del empleo del microscopio son:

- Poder de resolución: Potencia de observación
- Capacidad de formar imágenes.

Es indispensable para realizar una buena microscopía el disponer de condiciones mínimas, si no existen se afecta la calidad de los resultados de las investigaciones que realizamos en los laboratorios.

REGLAS PARA EL MANEJO DEL MICROSCOPIO ÓPTICO:

- Colocar en una meseta sólida con adecuada altura para el observador.
- La mesa debe ser de color negro mate para evitar que el reflejo de luz penetre en su orificio.
- **NUNCA** debe usarse la luz solar directa.
- Si el microscopio es monocular la observación se realizará alternando los ojos. Si es binocular se gradúan la distancia entre los lentes objetivos.
- Colocar el porta objeto sobre la platina con el cubre en la cara posterior, procurando quede la zona a observar debajo del objetivo.

- Realizar el enfoque con el lente de menor aumento (10x), ladeando la cabeza mirar por fuera la preparación, manipulando los tornillos macro y micro, según sean necesario, utilizando luego el más potente.
- Si se va a utilizar el lente de inmersión, añadir una gota de aceite a la preparación, aproximando hasta que el lente haga contacto con el aceite. Separando lentamente, con el uso del macro hasta lograr imagen microscópica y recurrir al micro para obtener enfoque nítido. **En estos casos es imprescindible el uso del condensador.**

CUIDADOS, LIMPIEZA Y MANTENIMIENTO DEL MICROSCOPIO: DURANTE SU EMPLEO:

- Colocar en una meseta sólida (evitando caídas accidentales y daños de éste).
- Antes de instalarlo a la electricidad, cerciorarse del voltaje de la red (ocasiona ruptura de la lámpara y disminución de intensidad lumínica por lo tanto pérdida de nitidez de la imagen).
- Si se produce derramamiento de agua, reactivo u otros compuestos, sobre la platina, secar de inmediato con material absorbente y seguidamente utilizar paño limpio. NO dejar que seque por evaporación pueden formarse costras o sufrir efectos oxidantes que deterioran el equipo y su funcionamiento.

AL CONCLUIR SU UTILIZACIÓN:

- Reducir la entrada de luz antes de apagar la lámpara (el filamento puede quebrarse por cambios bruscos de temperatura)
- Antes de retirar la lámina con la preparación, separar el lente objetivo con la ayuda del macro (evitar roces, con la lente frontal, que la puedan dañar)
- Si utilizó lente de inmersión limpiar con paño de tela fina (evita las ralladuras en los objetivos)(**NO** utilizar alcohol puede desprender el cemento que la mantiene fija).
- Tapar cada lente ocular (polvo) y cubrir el microscopio con tapete de nylon.
- Si fuese necesario su traslado a otro sitio sujete el microscopio con una mano por la base y con la otra agarre fuertemente el brazo manteniendo en posición vertical el equipo.



CENTRIFUGA:

Equipo electromecánico que se utiliza en los laboratorios como parte de la realización de diferentes procedimientos. Se fundamenta en la utilización de la FUERZA CENTRIFUGA (Fuerza que se desarrolla a todo cuerpo que se mueve entorno a un punto central la cual tiende a separarlo de dicho centro).

CENTRIFUGACION:

Procedimiento mecánico, al que se somete una mezcla, aplicando la fuerza centrífuga, para separar los componentes que la forman.

Se utiliza para retirar líquidos de sólidos, líquidos miscibles entre sí con pesos específicos diferentes, compactar o agrupar células suspendidas en líquidos.

Tiene gran aplicación en el Laboratorio, se utiliza diariamente en la separación forzada de células (Hito, orina, obtención de suero o plasma, filtrado libre de proteínas, etc.).

PARTES DE LA CENTRIFUGA:

- **CABEZA:** Pieza metálica en forma de barra que se inserta en el eje central del motor y en cada barra se inserta un porta tubo, que puede ser de ANGULACIÓN (SON FIJOS, QUEDAN EN POSICION OBLICUA CON RESPECTO AL EJE) o SUSPENSIÓN. (POSICIÓN HORIZONTAL CUANDO LA CENTRIFUGA ALCANZA ALTAS VELOCIDADES). El cabezal adoptara la forma que tienen los rayos de una carreta, con tantas barras fijas, en posición horizontal, como tubos puedan centrifugar. (2, 4, 6, 8, ... etc)(SIEMPRE EN NÚMEROS PAR)
- **PORTA TUBO:** Tubos metálicos donde se introducen los de vidrio que contienen el material que va a ser centrifugado. En el fondo tiene colocado un tapón de goma que actúa como amortiguador a los tubos de vidrio durante la centrifugación.
- **MOTOR ELECTRICO:** Imprime el movimiento de rotación al cabezal mediante velocidades controladas por medio de un reóstato que modifica la intensidad del flujo eléctrico.
- **TACOMETRO O VELOCIMETRO:** Registra la velocidad de rotación del cabezal en gravedades por minutos (gxm) (revoluciones por minutos(rpm)).
- **RELOJ DE INTERVALO:** Regula el tiempo de centrifugación.
- **BOMBILLO PILOTO:** Generalmente de color rojo que indica cuando está encendido el equipo.

BALANCE DE LOS TUBOS:

Deben colocarse en posición diametralmente opuesta y con el mismo peso, si no se ocasionaría un desbalance por desigualdad en la fuerza centrífuga, produciendo vibraciones y sacudidas que pueden conllevar a la ruptura de los tubos y desajuste del equipo.

Si se va a centrifugar solo una muestra el contrapeso se debe realizar con agua.

FUNCIONAMIENTO:

- 1.- Abrir la tapa de la centrifuga.
- 2.- Introducir los tubos con las muestras en el porta tubos.
- 3.- Cerrar la tapa de la centrifuga.
- 4.- Conectar el equipo a la red eléctrica.
- 5.- El botón que regula la velocidad debe estar en 0.
- 6.- Encender el equipo, accionando el interruptor.
- 7.- Marcar el tiempo de centrifugación deseado, girando el botón del reloj de intervalo. (Si no tuviese reloj de intervalo apagar tan pronto concluya el tiempo previsto de centrifugación)
- 8.- Marcar gradualmente la velocidad, accionando el velocímetro o tacómetro lentamente.
- 9.- Espere a que la centrifuga se detenga. (Si estuviese centrifugando muestras de material contaminado espere dos o tres minutos antes de abrir la tapa, así evitamos la emanación de aerosoles).
- 10.- Extraiga los tubos, apague la centrifuga, desconecte de la red eléctrica y ciérrela.

CUIDADOS Y CONSERVACION:

- Llenar los tubos hasta un cm por debajo del borde superior.
- Colocar los tubos en lados opuestos. (mismo tamaño y peso).
- Eliminar de inmediato cualquier material que se derrame sobre la misma.
- Ruptura de tubos: Extraer los porta tubos y eliminar restos de vidrio, limpiar bien.
- Para eliminar polvo y humedad, limpiar frecuentemente con un paño húmedo, el interior de la centrifuga.



BALANZAS:

Instrumentos que se utilizan para medir el peso relativo de los cuerpos, con piezas de peso certificado denominadas pesas..

Su principio se basa en que el punto de apoyo se encuentra exactamente entre el punto de potencia y el punto de resistencia. (Ejs: cachumbambé)

Existen múltiples tipos y modelos: Balanza **ORDINARIA**, **GRANATARIAS** (de un platillo y de Robertval (dos platillos)) y de **PRECISIÓN** (mecánicas y eléctricas)(precisión en el peso de pequeñas cantidades de material) o **ANALÍTICAS** (DIGITAL: simplifica el trabajo con sólo conectar a la red eléctrica, se coloca el material en el platillo externo y se acciona el botón, el peso se podrá observar digitalizado en una pequeña pantalla).

CONSERVACIÓN DE LAS BALANZAS:

- Colocar sobre una mesa firme.
- Alejar lo más posible de vapores corrosivos (pueden afectar la parte del metal).
- Evitar cambios bruscos de temperatura.
- Conservar siempre cerrada (balanza de precisión).
- Limpiar siempre antes y después de las pesadas.
- No tocar con los dedos, utilizar la pinza.
- Solo la pesada de sólidos se puede realizar directamente en los platillos.



Las investigaciones correspondientes a química clínica en el laboratorio, requieren en su etapa final, que se mida la energía radiante capaz de absorber las soluciones obtenidas en el proceso.

Para la utilización correcta de estos equipos se debe dominar el concepto de **FOTOMETRIA DE ABSORCION.**

FOTOMETRIA:

Parte de la óptica que estudia los fenómenos de la luz y su intensidad..

FOTO: Apocope de fotografía.

METRIA: Medición

Fotocolorímetros: equipos que emplean filtros monocromáticos (una longitud de onda determinada) para la dispersión de la luz, no se utilizan en la zona ultravioleta del espectro. Su fuente de luz es la lámpara de W. El detector es una fotocelda y las cubetas pueden ser de vidrio o plásticas.

Espectrofotómetros: equipos que poseen para la dispersión de la luz un prisma o una red de difracción. Por lo general cubren el rayo ultravioleta cercano y por lo tanto requieren, además de la lámpara de W, una de D2 y cubetas de cuarzo (el vidrio y el plástico absorben la radiación ultravioleta). La luz se amplifica con espejos y el detector es un fototubo o un fotomultiplicador.

ESPECTROFOTOMETRIA:

Parte de la óptica que estudia los fenómenos de la luz y su intensidad, descompuesta en prismas (que pueden ser de cuarzo o vidrio con forma de pirámide)

Ambos métodos son generalmente de fácil realización y muy sensibles, informándonos sobre la concentración de la muestra analizada. Ejs: determinación de glucosa en sangre, ácido úrico en suero, creatinina, etc.

EL FOTÓMETRO Y EL ESPECTROFOTÓMETRO SE BASAN EN EL MISMO PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO, AUNQUE EXISTEN DIFERENCIAS ENTRE ELLOS:

FOTOMETROS	ESPECTROFOTOMETROS
Utiliza filtros.	Utiliza prismas o rejillas.
Menor poder resolutivo.	Mayor poder resolutivo.
Obtiene la luz de forma discontinua	Obtiene la luz de forma continua.

PARA UTILIZAR MEJOR Y COMPRENDER ESTOS EQUIPOS ES NECESARIO CONOCER EL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO:

Rayos gamma	Menor de 0,1 nm
Rayos x	0,1 a 100 nm
Ultravioleta	100 a 400 nm
Visible	400 a 800 nm
Infrarrojo	800 nm a 0,4 mm
Microondas	0,4 mm a 25 cm
Ondas de radio	Mayor de 25 cm

La ley fundamental que rige estos procesos (FOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN) es la LEY DE LAMBERT Y BEER que plantean:

LAMBERT: la absorción de la luz es directamente proporcional al espesor del cuerpo.

BEER: la absorción de la luz es directamente proporcional a la concentración de la muestra.

Si se unifican ambos criterios tenemos que la ABSORCIÓN DE LA LUZ ES DIRECTAMENTE PROPORCIONAL AL ESPESOR DE LA SOLUCIÓN Y LA CONCENTRACIÓN DE LA MUESTRA DE LA SUSTANCIA COLOREADA, También podemos decir que la TRANSMISIÓN DE LA LUZ ES INVERSAMENTE PROPORCIONAL A DICHO ESPESOR Y CONCENTRACIÓN DE LA MUESTRA.

Basados en esta ley podemos enunciar las dos formas de expresar la cantidad de luz que atraviesa una solución coloreada:

- **ABSORBANCIA:** Fracción de la luz que NO atraviesa la sustancia coloreada. Donde la concentración es directamente proporcional a la misma. Cuanto mayor sea la concentración mayor será la absorbancia.

- **TRANSMISIÓN:** FRACCIÓN QUE LLEGA A LA SOLUCIÓN COLOREADA Y LA ATRAVIESA. Se multiplica por 100 para obtener el % de transmisión. Cuanto mayor sea la concentración menor será el % de transmisión y viceversa.

PRINCIPIOS DE CONSTRUCCIÓN DE EQUIPOS

Los componentes básicos de un equipo de medición de absorción, son los siguientes

1. **Fuente de energía radiante:** La función de la fuente de luz es iluminar con la intensidad requerida, se emplean lámparas de W (tungsteno) (Visible 400 - 800 nm), Xe (xeno) y Hg (mercurio) para cuando se requieren elevados niveles de iluminación, duración relativamente corta, estas se calientan demasiado y requieren un aislamiento térmico, y de D2 (deuterio) (Ultravioleta 100 - 400 nm)
2. **Selector de banda:** Los dispositivos para la dispersión de la luz limitan la longitud de onda de la que incide sobre la muestra, a la banda en que se produce la absorción. Pueden ser filtros de absorción o de interferencia (los filtros se construyen de gelatina, líquido o cristal coloreados y el ancho de banda seleccionada es de 40 a 50 nm; con los filtros de interferencia (un espaciador dieléctrico transparente colocado entre películas semitransparentes de Ag) se obtienen bandas más estrechas de 10 a 15 nm), prismas (dispersan

la luz policromática según su índice de refracción, y seleccionan una longitud de onda determinada) o red de difracción (serie de muescas o canales paralelos, alineados en breves intervalos (hasta 10 000 en 1 cm) sobre una superficie muy pulida (aluminio, por ejemplo), con ello se logra una selección muy clara de la longitud de onda deseada)

3. **Detector:** una fotocelda, un fototubo o un fotomultiplicador, en dependencia del equipo. Transforman la energía radiante en eléctrica.

4. **Elementos asociados:** lentes, espejos, diafragmas y cubetas para las muestras que pueden ser de vidrio, plástico

5. **Galvanómetro:** mide la corriente producida por el detector en una escala calibrada (convierte los electrones recibidos en números)

LA FORMULA FUNDAMENTAL DE LA FOTOCOLORIMETRÍA ES:

$$C.M = \frac{DOM}{DOP} \times CP$$

CM – CONCENTRACION DE LA MUESTRA

CP – CONCENTRACION DEL PATRON

DOM – DENSIDAD OPTICA DE LA MUESTRA

DOP- DENSIDAD OPTICA DEL PATRON

La CALIBRACION de los equipos se realiza diariamente para comprobar si su funcionamiento es correcto, con una solución de absorbancia.

Para las diferentes determinaciones se utilizan: blancos, sustancia patrón, estándares de la sustancia a investigar.

NORMAS Y MANTENIMIENTO DE LOS INSTRUMENTOS FOTOMETRICOS:

Deben seguirse estrictamente las normas del fabricante.

Colocar el equipo en mesa o base libre de vibraciones. NO mover cuando está encendido.

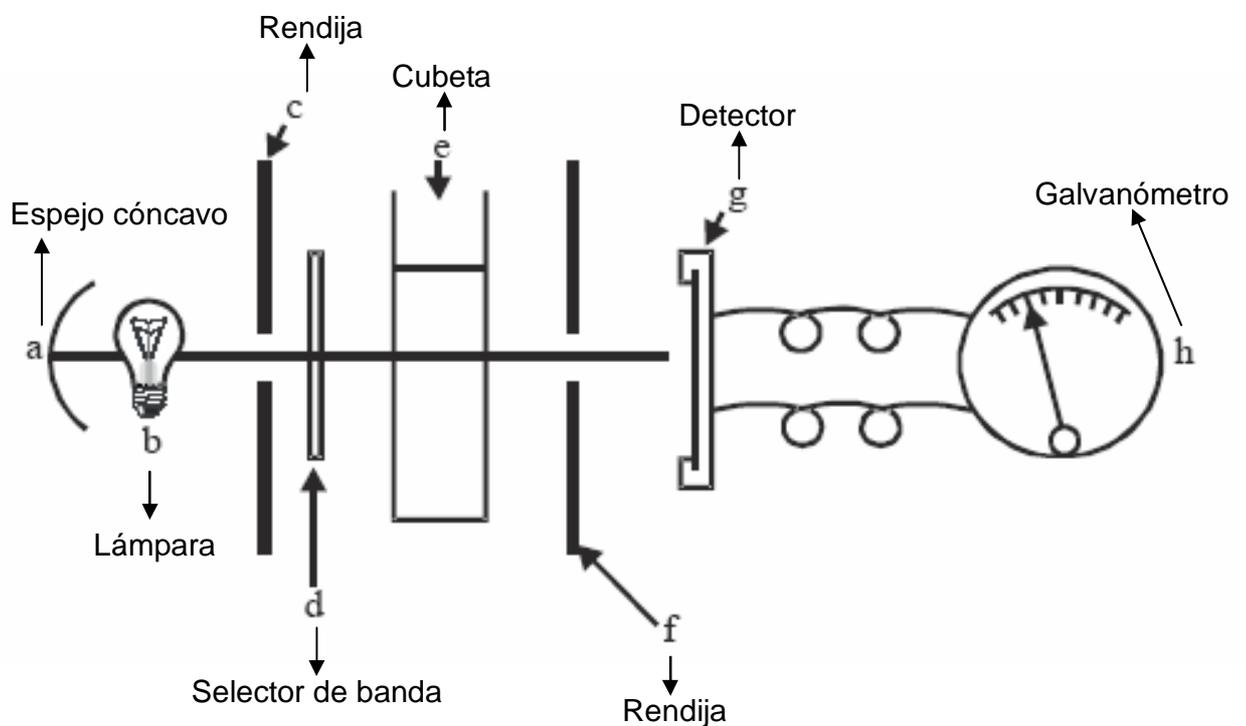
INDICACIONES GENERALES:

1.- Encender el equipo solo el tiempo suficiente y necesario para el trabajo, pues tiene vida limitada.

- 2.- No trasegar soluciones encima del mismo.
- 3.- Colocar la cubeta solo cuando esté limpia. Se limpiará con un paño fino o gasa.
- 4.- Apagar el equipo solo después de llevada la aguja del galvanómetro por debajo de 50%.
- 5.- Limpiar toda la suciedad que halle sobre el equipo, antes de taparlo.
- 6.- mantener tapado mientras no se use.
- 7.- Ante cualquier inconveniente llamar al personal especializado para que efectúe su revisión.

ERRORES FOTOMÉTRICOS PUEDEN ESTAR DADOS POR:

- ✓ Cubetas sucias.
- ✓ Soluciones coloreadas turbias.
- ✓ Mal ajuste del fotómetro.
- ✓ Mala lectura del galvanómetro (realizar lectura con la escala de frente)
- ✓



Elementos auxiliares del laboratorio: bajo esta clasificación se agrupan instrumentos que como su nombre lo indica, auxilian o ayudan en el desarrollo del trabajo del laboratorio, tienen una importancia extraordinaria porque sin su presencia sería prácticamente imposible el proceso tecnológico. Ejemplo de ellos tenemos los agitadores mecánicos, equipos de climatización y/o refrigeración, elementos de soporte y aprensión, elementos de iluminación/amplificación y el procesador automático de tejido

Agitadores mecánicos: son instrumentos que se utilizan para mezclar o mantener en agitación determinadas sustancias. Ejemplos: rotores, zarandas, otros

El rotor: equipo eléctrico pequeño con forma de cajón provisto de una superficie plana sobre la cual se encuentra una plataforma giratoria donde se ponen las muestras, presenta además dos botones, uno es el timer que indica el tiempo y el otro es el velocímetro donde se regula la velocidad de rotación del equipo también tiene un bombillita rojo que indica que el equipo está en funcionamiento. Se utiliza para mezclar mecánicamente las muestras con los reactivos, lográndose una mejor homogenización que la que se puede conseguir por procedimientos manuales, su movimiento es rotatorio (es decir de forma circular). Ejemplos: para mezcla el suero con la emulsión de antígeno para las pruebas serológicas de VDRL.

Las zarandas: equipos que se fabrican de diferentes tamaños y formas, al igual que el rotor presenta una plataforma que en lugar de rotar se desplaza con movimientos cortos, frontales y de retroceso en forma continua y de velocidad regulable, garantizando la mezcla u homogenización de las muestras y/o reactivos, presenta igualmente dos botones, uno es el timer que indica el tiempo y el otro es el velocímetro donde se regula la velocidad de rotación del equipo también tiene un bombillita rojo que indica que el equipo está en funcionamiento. Se utiliza para mezclas muestras difíciles de homogenizar manualmente por su densidad o mucosidad o para ayudar en la conservación de células por un mayor período de tiempo. Ejemplos: almacenamiento del concentrado de plaquetas por un máximo de 5 días a temperatura de 22°C +/- 2°C en agitación constante, cuando no se cuente con las condiciones para ello se conservarán a 4°C +/- 2°C durante 3 días. También para la homogenización

de las muestras de esputo, para la preparación de reactivos difíciles de diluir de forma manual, agitadores de bolsas de sangre, etc.

Equipos de climatización y/o refrigeración: son equipos que ayudan en la climatización de los locales y en la conservación de muestras y reactivos. Ejemplos: aires acondicionados, deshumificadores, refrigeradores tanto domésticos, refrigeradores de sangre, frizer, otros.

Refrigeradores de sangre: son refrigeradores fabricados específicamente para conservar la sangre a temperaturas entre 2 a 6 °C, con puertas de vidrio y alarma visible y audible.

Elementos de soporte y aprensión: ayudan a contener o soportar la cristalería de laboratorio. Ejemplos: gradillas, cestas para tubos, bandejas, trípodes, soporte universal, soporte de Westergreen, pinzas para tubos, malla de amianto, otros.

Gradillas: fabricadas de metal, madera o plásticas, con el objetivo de colocar en ellas los tubos de ensayo. Generalmente son rectangulares y están estructuradas por tres planchas en posición horizontal, separadas entre sí, provistas las dos superiores de perforaciones donde se coloca la cristalería en cuestión y la inferior es lisa y sin perforaciones ya que es la que sirve de base a la cristalería.

Cestas: generalmente son cilíndricos o cuadrados y están fabricados de alambres entrelazados o chapas de metal inoxidable. Son utilizados para depositar la cristalería para su secado, esterilización o almacenamiento.

Soporte: como su nombre lo indica se utilizan para sujetar o contener cristalería. Los más conocidos son: el soporte universal y el soporte de Westergreen.

Pinzas: se fabrican diferentes tipos, unas para fijarlas al soporte universal y otras para utilizarlas de manera manual, entre las mas usadas están: las de

sujeción del soporte, las pinzas para tubos de ensayo, la pinza de Mohr y pinzas de disección.

Trípodes: elementos de tres patas con un aro de metal fundido en el extremo superior de dichas patas. Se utilizan para sostener vasijas que van a ser sometidas al calor de la llama del mechero. Para esto casi siempre se utiliza la rejilla de amianto que es una rejilla de alambre entretrejido con un centro circular de amianto fundido en ella. Este último se utiliza como aislante entre los recipientes y la llama del mechero.

Bandejas o cubetas de acero inoxidable: son bandejas con tapas o sin ellas fabricadas de acero inoxidable que se utilizan para trasladar muestras, secar cristalería, descontaminar, guardar material estéril o esterilizar materiales de trabajo.

Desplasmatizadores: instrumentos que se utilizan en los bancos de sangre en el departamento de producción de componentes para la separación de las partes de la sangre una vez centrifugada.

Selladores de bolsas: equipos que se utilizan como bien su nombre lo dice para sellar las tubuladuras de las bolsas de sangre evitando la contaminación de la misma.

Elementos de iluminación/ amplificación: son instrumentos que se utilizan para dar más claridad y/o aumentar la imagen a observar. Ejemplos: lámparas, aglutinoscopios, etc

Lámparas: pueden ser horizontales o verticales, de mesa o de pie y de cuello flexible o no. Se utilizan generalmente para iluminar el área o zona donde se está trabajando, dándole mayor claridad a la misma y mejor visión al observador.

Aglutinoscopios: son fabricados en forma de cajas que en su parte superior tienen una tapa de cristal o acrílico y en su parte interna presenta un bombillo

el cual aporta calor a las láminas que se ponen encima de la parte superior con el objetivo de acelerar la reacción antígeno-anticuerpo y facilitar la observación de la aglutinación.

Existen además otros accesorios que auxilian en el trabajo del laboratorio como son: asas y agujas de platino, aplicadores, mecheros, jarra de anaerobiosis, etc.

Aplicadores: son generalmente fabricados de madera, pero pueden ser también de cristal. Son finos y alargados. Se utilizan para desprender los coágulos de sangre de las paredes del tubo de ensayo, para tomas de muestras como exudados, para mezclar muestras con reactivos como en el caso de la determinación de los grupos sanguíneos, las heces para su estudio parasitológico, etc.

Mecheros: pueden ser de alcohol o de gas. Se emplean para esterilizar los instrumentos de siembra, para flamear la boca de los frascos y tubos de ensayos que requieren de esterilidad, también se utiliza para fijar los frotis mediante el calor, calentar medios de cultivos, etc.

Jarra de anaerobiosis: recipiente cilíndrico, provisto de una tapa que propicia un cierre hermético. Tiene un diámetro y altura que permite colocar en su interior unas 10 placas de Petry con cultivos (una encima de la otra). Se utilizan para crear condiciones anaeróbicas para facilitar el crecimiento de algunos microorganismos que requieren de estas para su desarrollo.

HORNO SECADOR:

Equipo metálico, rectangular, provisto de paredes aisladas con amianto, resistencia y termostato, dotado de parrillas colocadas de forma horizontal donde será situado el material a esterilizar. Genera calor seco, alcanzando temperaturas máximas de hasta 200°C.

Se utiliza para la esterilización y secado de la cristalería de laboratorio (objetos de cristal y metal (agujas, pinzas), aceites, grasas sólidas (vaselina, parafina) o productos en polvo que por el % bajo de agua que contienen no son penetrados por la humedad.

MANIPULACION Y CUIDADOS:

- Los objetos a esterilizar deben estar debidamente tapados y envueltos en papel resistente.
- La temperatura debe controlarse entre 160 y 180⁰C en un período de 90 minutos a 2 horas, a partir de alcanzar la deseada.
- Cerrar firmemente la puerta.
- Transcurrido el tiempo de esterilización, apagar la fuente de calor, accionando el interruptor y esperar a que el horno se enfríe para extraer el material.
- Mantener la limpieza del mismo.
- Velar que esté encendido solo el tiempo necesario.
- NO introducir alimentos.

TIENE COMO **LIMITANTE QUE NO DESTRUYE LAS ESPORAS**

ESTUFA O INCUBADORA:

Diseño industrial semejante al del horno en cuanto a estructura, forma y tamaño. Posee dos puertas una de cristal (interna) y la otra metálica (externa).

Se manipula generalmente a 37⁰C y la temperatura que alcanza no sobrepasa los 70⁰C.(el punto de fusión (licuación) de las distintas parafinas nunca excede esta temperatura)

Se utiliza para el mantenimiento y favorecer el crecimiento de siembras bacteriológicas. Ejs: antibiogramas, crecimiento de cocos en general, etc.

BAÑO DE AGUA TERMOSTATIZADO:

Es utilizado en diversos procederes de laboratorio, con su uso se pueden alcanzar valores por encima de la temperatura ambiente hasta un máximo de 100⁰C.

Este equipo siempre es eléctrico y consta de un depósito de agua que incluye resistencia controlada por un termostato que permite el paso de la corriente eléctrica, manteniendo automáticamente la temperatura deseada, controlada por un termómetro de mercurio que se sumerge en el agua a la altura de los tubos de ensayo. **SE DEBE UTILIZAR AGUA DESTILADA**, ya que en el

proceso de evaporación se depositan sales sobre las paredes y fondo que pueden deteriorar al equipo.

Puede **NO** presentar regulación termostáticas (este último se emplea cuando se requiere temperatura de ebullición).

BAÑO HISTOLÓGICO:

Equipo con las características del baño termostático que se utiliza, en los laboratorios de Citohistopatología, para hacer flotar los cortes de parafina, de forma que se extiendan y puedan ser tomados con una lámina portaobjetos.

La temperatura se controla con un termostato el cual mantiene una temperatura estable entre los 40 y 45 grados.

MICROTOMOS:

Máquina mediante la cual se obtienen cortes histológicos, suficientemente finos para que puedan ser atravesados por la luz, permitiendo su observación al microscopio.

Están constituidos por tres partes fundamentales:

- ✓ Fijador del bloque. (sostiene el tejido en posición)
- ✓ Carro de la cuchilla.
- ✓ Tornillos (ajustar y colocar los bloques en buena posición con respecto a la cuchilla)

Existen varios tipos:

- ✓ **ROTATORIO VERTICAL:** Muy valioso para la obtención de cortes histológicos seriados.

El movimiento del carro de la cuchilla proyecta el bloque hacia delante

- ✓ **DESPLAZAMIENTO Y HORIZONTAL O DE PARAFINA:** Se utiliza para cortar tejidos infiltrados o incluidos en casi cualquier medio. El movimiento del carro de la cuchilla permite que el bloque suba.

Ambos poseen tornillos micrométricos que permiten el movimiento del carro y la proyección del bloque, así también una escala ranurada que marca el grosor en micras que se desea para el corte, controlando el grado de avance del bloque.

Son los más utilizados para el trabajo diario.

- ✓ **CONGELACIÓN:** Los tejidos frescos no fijados o los tratados con formol pueden ser cortados sin infiltración. Generalmente utilizan un balón de anhídrido carbónico (dióxido de carbono) líquido. El patólogo puede hacer un diagnóstico en pocos minutos siendo de gran valor para el médico y el paciente. Son utilizados en el trabajo rutinario para el estudio de material lipóide o grasa, impregnación del sistema nervioso central, enzimas

- ✓ **CRIOSTATO:** es un micrótopo vertical rotatorio dentro de una cámara refrigerada y que además tienen que estar todos los materiales y accesorios a la misma temperatura, para que el tejido no sufra cambios bruscos de temperatura. Método sencillo y rápido para preparar cortes congelados apropiados, suficientemente finos para estudios detallados.

En este caso la cuchilla, el micrótopo y el tejido se mantienen a la misma temperatura (-10 a -20⁰C)

Los micrótopos de tejidos no procesados como el de Congelación y el Criostato se emplean para las biopsias por congelación, estudios de enzimas, tejido lipóide, porque si lo procesas por parafina la temperatura 56 a 60⁰ C disuelve las grasas, al igual que los alcoholes del procesamiento histológico y solo se ve en el tejido vacuolas donde existió grasas y no se puede hacer un estudio especial del tipo de grasas.

LAS VENTAJAS DEL MICROTOMO FRÍO ES QUE:

- ✓ Evitan las alteraciones del tejido causadas por la fijación, deshidratación y el calor por proceso del tejido fresco.
- ✓ Los cortes permiten gran variedad de técnicas histoquímicas (enzimas que requieren cortes frescos y técnicas de anticuerpos fluorescentes).
- ✓ La microscopía de fluorescencia y la autoradiografía son todas posibles.
- ✓ El diagnóstico patológico es más rápido.

CUIDADOS A TENER CON EL USO DEL MICROTOMO:

- 1.- Los bloques de parafina y fragmentos de tejidos deberán limpiarse con una brocha suave.
- 2.- Las partes metálicas se limpiarán con xilol.

3.- Secar bien la máquina especialmente el carro de la cuchilla, manteniendo engrasada esta área, con aceite fino adecuado, para prevenir la oxidación.

4.- Cubrir cuando no se esté utilizando.

CUCHILLAS DEL MICROTOMO:

Del filo de estas depende la obtención de un buen corte, son elaboradas con acero de gran dureza y calidad, todo técnico deberá aprender a cuidar y afilar las mismas.

SE CLASIFICAN DE LA SIGIENTE FORMA:

- ✓ PLANO-CONCAVA: Una cara plana y otra cóncava. Se utiliza para cortes de celoidina en microtomos de deslizamiento.
- ✓ SEMI-CONCAVA-PLANA: Una cara ligeramente cóncava y la otra plana. Se utiliza para los cortes de parafina.
- ✓ BICONCAVA: Ambas caras cóncavas. También se utiliza para los cortes de parafina
- ✓ PLANA-PLANA: Ambas caras son planas .Se utilizan en cortes de congelación y también en los bloques de parafina.

CUIDADOS:

1.- Deben limpiarse siempre el agua y sangre, para así evitar el moho.

2.- Aceitarlas.

3.- Proteger siempre el filo, manteniéndolas suspendidas cuando no se utilizan.

4.- Para el afilado utilizar el método manual (piedras de agua o de aceite) o automatizado (afiladores automáticos)

El objetivo de **AFILAR** las cuchillas es quitar las melladuras e irregularidades en el filo que pueden provocar rasgaduras o estriaciones en los cortes, debiendo **ASENTAR** la misma para garantizar la pérdida de filo sin melladuras.

Dispensador de parafina: es un equipo eléctrico en cuyo interior se deposita la parafina con la que se va incluir los tejidos, este equipo tiene la función de mantener la parafina líquida y a la temperatura ideal. La temperatura se debe verificar de forma regular por medio de un termómetro.

Afilador de cuchillas automático: este equipo ahorra mucho tiempo y esfuerzo en el afilado de las cuchillas, y entre otras ventajas que presentan se puede plantear que con estos el filo de la cuchilla permanece recto, en

contraste con la cuchilla afilada a mano, que se desgasta más en el centro que en los extremos, hasta que se hace curvo.

El afilador automático consiste, en esencia, en un sujetador de la cuchilla y en un disco afilador, con un mecanismo para mover uno con relación al otro, y otro mecanismo para virar la cuchilla por la otra cara a intervalos regulares.

El asentado de la cuchilla tiene como objeto agudizar el filo de esta. Si la cuchilla solo ha perdido el filo sin mellarse, solo basta con asentarla, por lo que un asentador de cuero fijo sobre una base de madera, es preferible.

Procesador automático de tejido:

Es un equipo eléctrico automático que consta de 12 vasos, de una plataforma circular que sostiene los vasos de cristal para los distintos líquidos utilizados, un brazo vertical central que sostiene la tapa de los vasos, un rotor que hace girar un cesto en el cual van colocados los fragmentos de tejidos y un mecanismo de reloj el cual hace que el brazo central se eleve a intervalos prefijados y gire para hacer pasar el cesto de un brazo u otro.

Los primeros 6 vasos de alcoholes ascendentes, 3 con graduaciones de 70%, 80% y 90% y 3 de alcohol absoluto, que deshidratan completamente el tejido, a continuación le siguen 4 vasos de Xilol, cuya función es extraer el alcohol de los tejidos, ya que este no es miscible con la parafina, esta función recibe el nombre de desalcoholización, y las sustancias que se emplean reciben el nombre de aclaradores.

Este equipo posee 2 vasos de parafina líquida, cuya función es infiltrar el tejido para darle consistencia interna. Su temperatura se regula mediante el termostato, la cual debe estar por encima de 2 o 3 grados centígrados del punto de fusión de la parafina que se utiliza, y se prepara el tejido para el siguiente paso de la técnica histológica que es la inclusión.

Los instrumentos de medición no volumétricos se emplean en las investigaciones de laboratorio para medir específicamente magnitudes de tiempo, temperatura o densidad.

Relojes

Se emplean dos tipos de relojes: los cronómetros y los de intervalo.

Cronómetros

Son relojes manuales, eléctricos o de cuerda, provistos de uno o dos botones de control que se utilizan para accionarlos o detenerlos.

Usos: para medir el tiempo en minutos y/o segundos.

Relojes de intervalos

Estructuralmente son similares a un reloj despertador doméstico y al igual que los cronómetros pueden ser accionados por energía eléctrica o cuerda, caracterizándose por hacer sonar una alarma cuando concluye el tiempo previsto.

Usos: para medir el tiempo en minutos y horas, además forman parte de todas las centrifugas de control automático para desconectar el motor después de llegar al final del tiempo preestablecido.

Importancia:

La medición del tiempo es de gran importancia para el trabajo del laboratorio ya que además de las reacciones químicas convencionales, hay investigaciones que se definen por el tiempo en que se produce o destruye una sustancia dada, por ejemplo. Las enzimas, también en varios procedimientos como las coloraciones, las pruebas de coagulación, la centrifugación, etc.

Densímetros

Son instrumentos que se emplean para medir la densidad o peso específico de soluciones compuestas por diferentes solutos y solventes.

El peso específico es la relación entre el peso de una sustancia con respecto al peso de un volumen igual de una sustancia de referencia, que usualmente es el agua.

Como la densidad del agua es de 1,0g/mL a 4°C, el peso específico de los líquidos, en g/cm³ o en g/mL es numéricamente igual a sus densidades.

Los densímetros son tubos de vidrio que miden de 15 a 20 cm de largo, estando estructurados por tres partes diferentes entre sí la parte superior consiste en un fino tubo de vidrio, alargado y cilíndrico, encontrándose sellado como un ámpula en su extremo distal. Mide aproximadamente algo más de un tercio de la longitud total del densímetro, teniendo impreso a todo lo largo una

escala graduada en cuya parte superior se puede observar el número 1.000 (que es la densidad del agua). La escala va descendiendo dividida en partes iguales y el valor mayor, variará, en dependencia del tipo de densímetro de que se trate, como por ejemplo:

1.060 en los urodensímetros, que se utilizan para medir la densidad de la orina. La porción media es más gruesa y de mayor longitud, consistiendo básicamente en un bulbo lleno de aire. En su extremo posterior el bulbo se estrecha y a continuación se dilata, formando un bulbo pequeño y redondeado, lleno de bolitas de metal,, semejantes a municiones, que proporcionan peso al densímetro, para propiciar que se mantenga en posición vertical cuando sea introducido en el líquido al que se le va a medir la densidad.

Procedimiento

1. Deposite en una probeta de tamaño apropiado (preferentemente no graduada) la solución a la que se le desea medir la densidad y colóquela sobre una superficie nivelada.
2. Tome el densímetro específico por la parte superior con los dedos índice y pulgar e introdúzcalo en la solución, colocándolo en el centro del diámetro de la probeta en posición vertical.
3. Haga girar el densímetro, mediante el accionar de los dedos y cerciorarse de que al rotar, no entre en contacto con las paredes de la probeta.
4. Espere a que se detenga el movimiento de rotación y proceda a realizar la lectura, para lo cual debe observar en qué graduación de la escala se encuentra el nivel de la solución, cuidando de no incurrir en el error de paralelaje.

pH METROS:

Los potenciómetros o pHmetros, son instrumentos eléctricos que se utilizan para medir el pH de una disolución, por estar diseñados para determinar las concentraciones de iones hidronios que posea, lo que permite conocer con precisión su grado de acidez o basicidad.

En el trabajo microbiológico, la determinación del pH de una disolución, resulta primordial en diversos procedimientos, como por ejemplo: en la elaboración de medios de cultivo, donde el pH debe ser ajustado de acuerdo a los requerimientos de los diferentes grupos y géneros bacterianos que pretendamos cultivar, puesto que el grado de tolerancia a la acidez o a la basicidad resulta diferente para cada uno de ellos, para lograr su desarrollo óptimo, al igual que para preparar cualquier solución de trabajo para los diferentes procedimientos de laboratorio es necesario controlar su pH.

FUNDAMENTO:

Se basa en la medición de las fuerzas electromagnéticas (f.e.m.) de las disoluciones a investigar, mediante el empleo de las pilas voltaicas preparadas con los electrodos que marcan la diferencia de potenciales entre ambos.

El electrodo transforma la energía química en energía eléctrica, en consecuencia la fuerza electromotriz por la celda electroquímica es comparada con la del potenciómetro y la diferencia es medida en voltios, para ser convertida y presentada por el galvanómetro con un valor de pH.

En los pHmetros modernos, el galvanómetro ha sido sustituido por una escala digitalizada.

Procedimiento para el manejo del potenciómetro o pH metro:

Estandarice el aparato

1. Conecte el equipo a la red eléctrica y asegúrese de que el botón se encuentre en la posición STD.BY.
2. Sumerja los electrodos en una solución buffer de pH conocido. (por ejemplo: npH 7). Accione el botón y haga coincidir la aguja en el número 7 de la escala de pH.
3. Extraiga los electrodos de la solución buffer y proceda a enjuagarlos en un recipiente que contenga agua destilada.
4. Tome la temperatura de la solución donde se medirá el pH y accione el botón indicador de temperatura del potenciómetro. También, si lo prefiere utilice como referencia la temperatura ambiente, en lugar de tomar la de la solución.

Lectura

1. Proceda a sumergir los electrodos en la solución cuyo pH se desea determinar.
 2. Accione el botón cambiándolo de la posición STD.BY a READ. La aguja oscilará, hacia la izquierda o la derecha indicando en la escala, el pH.
- Si se requiere realizar una nueva lectura lave los electrodos previamente con agua destilada.

MECANIZACION Y AUTOMATIZACION. CONCEPTO E IMPORTANCIA

Mecanización: no es más que la acción de convertir las acciones humanas en actos propios de una máquina por su regularidad y automatismo.

Automatización: aplicar procedimientos automáticos a un proceso.

La automatización en el laboratorio se refiere a los procesos analíticos que son realizados por equipos, con la menor participación posible del ser humano.

PIPETAS AUTOMATICAS DE VOLUMEN FIJO Y VARIABLE, DISPENSADORES.

PIPETAS MECÁNICAS

En la actualidad se comercializan varios tipos y modelos de pipetas mecánicas.

Entre las más empleadas en los laboratorios se encuentran:

La pipeta de pistón clásica del tipo "Marbung", la del tipo "Jena" y la "Multicanal", que forman parte del sistema micro analítico Eppendorf. En estos tipos de pipetas el líquido se carga y descarga, mediante el accionar manual de la pipeta a una boquilla finamente cónica y puntiaguda de material plástico, que se inserta en el extremo inferior de la pipeta, de manera que el líquido aspirado pasa a la boquilla, pero no entra en ningún momento en la pipeta lo que permite su empleo reiterado, mediante el intercambio en cada ocasión de la boquilla plástica desechable.

El índice de error, dado por los fabricantes, para este tipo de pipeta es de solo un 1%.

Estas pipetas se emplean para medir volúmenes de líquidos en el rango de microlitros. Un microlitro es equivalente a la millonésima parte de un litro o la centésima parte de 1 mL. (100uL = 0.1ml) (1000uL = 1 ml)

Pipeta tipo Marburg

Este tipo de pipeta es de pistón fijo, estando diseñada para cargar o descargar solamente, un volumen determinado en microlitros, el cual está indicado mediante un número impreso en la parte superior de la pipeta.

Como cada pipeta de este tipo, está limitada para aspirar o dispersar exclusivamente, un volumen fijo para el que ha sido diseñada, los fabricantes la comercializan

en serie de: 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 750, 800, 900 y 1000 mL.

Pipeta del tipo Jena

El principio funcional es similar al de la pipeta del tipo Marburg, aunque difieren en el diseño, comercializándose distintos modelos. La particularidad estructural que tiene este tipo de pipeta es que está provista de un botón giratorio en su parte superior, mediante el cual se hace descender o ascender al sistema mecánico, con lo que consigue variar su nivel de ubicación, lo que propicia que se pueda ajustar el grado de succión de la pipeta dentro de un determinado rango, para que aspire o disperse un volumen deseado.

Esta pipeta dispone además en su parte superior, muy próximo al botón giratorio, de una ventanilla rectangular provista en su interior de una escala numérica que va aumentando o disminuyendo el valor de los dígitos en la medida en que el botón sea girado hacia delante o hacia atrás. De esta manera se ajusta previamente la pipeta para que trabaje a un volumen deseado en números externos y décimas de microlitros.

Pipeta del tipo multicanal

Este tipo de pipeta se sustenta en el mismo principio funcional, pero difieren en que, en lugar de una sola boquilla desechable, están diseñadas para que se le puedan insertar 8 o más boquillas, ubicadas unas al lado de las otras, lo que le da un aspecto de rastrillo. Cuando se acciona la pipeta, cada una de las

boquillas succiona o dispersa el mismo volumen de líquido de manera simultánea.

SISTEMA ULTRAMICROANALITICO (SUMA).

Tecnología: Conjunto de los conocimientos propios de un oficio mecánico o arte industrial.

SUMA: Sistema Ultra Micro Analítico.

Tecnología SUMA: Sistema integral que incluye equipos, reactivos y software. Tiene como ventaja fundamental que se trabaja con pequeños volúmenes de muestras biológicas y además tiene un amplio espectro que nos permite el uso de diferentes programas especializados de salud.

El desarrollo y aplicación de la tecnología SUMA en los últimos 17 años ha estado orientada fundamentalmente a programas o aplicaciones de salud en tres líneas de trabajo principales:

- Materno - Infantil: Diagnóstico prenatal
Diagnóstico neonatal
- Certificación de la sangre
- Vigilancia epidemiológica

Algunos de estos diagnosticadores como el UMELISA AFP y el UMELISA HCG, además el UMELISA PSA se utilizan también como Marcadores Tumorales en el diagnóstico y seguimiento de algunas enfermedades como el cáncer de la próstata, el hepatocarcinoma, el coriocarcinoma, la mola hidatiforme, etc.

En la actualidad existen 176 laboratorios instalados en nuestro país que utilizan la tecnología SUMA (Red Nacional de Laboratorios SUMA) ya sea en Hospitales Maternos, Banco de Sangre, policlínicos como en Centros de Higiene y Epidemiología, destinados a servir a toda la población en general y su buen funcionamiento depende no sólo de la calidad de los equipos y reactivos, sino también de la capacitación del personal que en ellos labora, constituyendo un modelo de organización para pesquisajes masivos en países

en vías de desarrollo. Además nuestra tecnología se utiliza en otros países como Venezuela, Brasil, Argentina, México, Colombia y China.

El equipamiento de la Tecnología SUMA abarca los siguientes Equipos e Instrumentos:

1. EQUIPO LECTOR DE PLACAS
2. EQUIPO LAVADOR DE PLACAS
3. Ponchador

El **Lector de Placas** (PR-521 o PR-621) es un Fotómetro-fluorímetro, diseñado para realizar lecturas de fluorescencia y absorbancia en placas y tiras UMELISA y MICROELISA.

La lectura se realiza en sets que contienen entre 1 y 12 tiras de 8 pozos. El tiempo de lectura de un set no excede los 9 segundos. Los sets leídos son almacenados en la memoria del equipo, para su posterior procesamiento. La capacidad de la memoria es de 24 sets de 12 tiras y la información se conserva aún después de desconectada la alimentación durante un período de 72 horas como mínimo.

El procesamiento de la información se puede realizar directamente en el equipo, mediante funciones establecidas en el o a través de una computadora acoplada vía RS-232, permitiendo el uso de programas más diversos y especializados, suministrados por el fabricante.

PARTES FUNDAMENTALES

(La ubicación de las partes es igual para los dos modelos.)

- | | |
|-----------|--|
| a- | Puerta de entrada/salida de la placa |
| b- | Teclado alfanumérico y de funciones |
| c- | Pantalla de visualización de la información |
| d- | Compartimiento para filtros de interferencia (absorbancia) |
| e- | Compartimiento para el filtro secundario de fluorescencia |
| f- | Interruptor de encendido / apagado del equipo |
| g- | Porta-fusibles |
| h- | Toma de entrada de alimentación |

- i- Conector para Impresora
- j- Conector para la comunicación serie (norma RS-232C) con la computadora
- k- Ventilador-extractor para el refrescamiento interior

MODOS DE MEDICIÓN.

Este equipo posee dos modos de medición. Fluorescencia y Absorbancia.

En la medición de fluorescencia, una lámpara fluorescente emite luz ultravioleta (365nm) que incide sobre la muestra y la excita. La señal resultante es captada por los detectores.

En la medición de absorbancia una lámpara de alógeno emite luz que incide sobre un filtro de interferencia cuya longitud de onda selecciona el usuario. La luz monocromática proveniente del filtro atraviesa la muestra llegando a los detectores.

El **Lavador de Placas** MW-2001 puede realizar lavados en placas de 96 posiciones que conformen una matriz de 8 x 12 pocillos tanto en las técnicas UMELISA[®], desarrolladas y producidas por el Centro de Inmunoensayo, como del resto de las técnicas MicroElisa convencionales que utilizan soportes de reacción suministrados por diferentes fabricantes.

Brinda facilidades para la programación de parámetros en dependencia de los requerimientos particulares de cada lavado y también para el almacenamiento permanente de estos en la memoria interna del equipo en forma de programas que pueden ser seleccionados por medio del teclado desde un menú visualizado en una pantalla alfanumérica.

CARACTERÍSTICAS GENERALES

- Lavado de placas UMELISA y MICROELISA.
- Volumen de lavado: Desde 20 hasta 400 µl.
- Volumen límite en los frascos de lavado y residuos:
Min. 50ml Máx.800ml.

- Número de tiras: Desde 1 hasta 12.
- Función de agitación: Desde 5 hasta 180 S.

PARTES FUNDAMENTALES

1. Transportador (soporte, donde se coloca la placa a la que se le realizará el lavado).
2. Cabeza de dispensación, encargada de distribuir uniformemente el líquido en los pocillos de la placa reacción.
3. Cabeza de aspiración (se introduce en los pocillos para extraer los residuos).
4. Panel de control, donde se encuentran el teclado, la pantalla y los indicadores lumínicos que en su conjunto facilitan el intercambio de información con el operario.
5. Soporte de los frascos.
6. Frasco que contiene la solución de lavado.
7. Frasco en que se colectan los residuos.
8. Mangueras de silicona para la interconexión de los diferentes elementos del sistema hidroneumático.
9. Interruptor de encendido / apagado.
10. Fusibles.
11. Toma de entrada de alimentación.
12. Conector para la comunicación serie, norma RS-232C.
13. Orificio de escape de presión.

El **Ponchador** Manual P-51, es un dispositivo diseñado para realizar el ponchado y el dispensado de la sangre colectada en papel de filtro, con un diámetro del ponche de 3 o 5 mm.

PRECAUCIÓN: El ponchador debe usarse solo para papel de filtro.

EQUIPOS SEMIAUTOMATIZADOS Y AUTOMATIZADOS USOS Y VENTAJAS.

La automatización del laboratorio médico en los últimos veinte años del siglo XX puede calificarse de explosiva. Las nuevas aplicaciones de técnicas ya conocidas, la incorporación de la informática, la robótica, la biotecnología, la tecnología de los biosensores y la resonancia magnética nuclear han invadido todos los campos diagnósticos que conforman el actual laboratorio clínico multidisciplinario. Por citar solo un ejemplo, los analizadores, en cualquiera de sus variantes y diseños, han llevado los valores de precisión y exactitud a límites que jamás habrían sido alcanzados si se trabajara sin este desarrollo tecnológico. A esto se une el aumento de la productividad y la disminución, a corto y mediano plazo, de los costos.

Los primeros analizadores que aparecieron en el mercado fueron los de flujo continuo. Estos se mantuvieron durante muchos años como únicos representantes de los nacientes analizadores y ayudaron a resolver, en parte, los problemas originados por el exceso de trabajo. En este tipo de analizador, las muestras se desplazaban una detrás de la otra, separadas por burbujas de aire en el interior de pequeñas mangueras flexibles (± 3 mm de diámetro).

Durante su recorrido, las proteínas presentes se eliminaban (diálisis) y también era posible la incubación, al pasar las mangueras por baño de María con la temperatura requerida. Los analizadores continuos alcanzaron una gran capacidad de procesamiento de muestras (750 muestras/h) y eran capaces de realizarle a cada muestra más de 15 determinaciones.

A pesar de haber constituido un importante paso de avance, este tipo de analizador tenía algunos inconvenientes que condujeron a que no se continuara su fabricación.

Años más tarde (1975), apareció en el mercado una versión más depurada de los analizadores químicos. Conocidos como analizadores discontinuos y discretos, desde el punto de vista metodológico imitan las etapas de los análisis que eran realizados de forma manual. Por ejemplo, la pipeta de muestras aspira la cantidad de muestra requerida tantas veces como determinaciones

tenga indicadas el paciente, y la deposita en cubetas de reacción independientes.

Ninguna muestra entra en contacto con la siguiente y esto los identifica como analizadores discretos. Son discontinuos porque las muestras y reactivos no viajan uno detrás de los otros por el interior de las mangueras.

A estas características se suman las siguientes:

1. No existe arrastre (muestras y reactivos independientes).
2. Son selectivos: el operador programa los análisis que se le hacen a cada muestra (paciente), por medio del teclado de una computadora.
3. Los desperfectos mecánicos no son frecuentes.

QUÍMICA SECA

La química seca tiene entre sus ventajas la de no emplear reactivos químicos líquidos. Esto facilita la eliminación de desechos y, por tanto, la contaminación es mínima. Esta característica fue la que impulsó, hace décadas, el uso de las tiras reactivas, tanto por el médico en el consultorio como por el propio paciente en su casa, para determinar la glucosa en sangre y orina, lo cual ha contribuido al buen control de la glicemia en los pacientes diabéticos. Más tarde aparecieron los glucosímetros, que sustituyeron la lectura visual por la reflectometría. En la actualidad se encuentran en el mercado múltiples aplicaciones de la química seca que van desde las pruebas de embarazo hasta la detección de marcadores tumorales como el antígeno prostático específico (PSA).

ANALIZADORES HEMATOLÓGICOS

Los avances mencionados se aplican también a los analizadores o complejos hematológicos, los cuales se diferencian de los químicos por la singularidad de algunas técnicas hematológicas. Los primeros equipos que aparecieron en el mercado hace más de 4 décadas, solo eran capaces de realizar recuentos celulares (eritrocitos y leucocitos). Para ello utilizaban un principio descubierto por la firma norteamericana Coulter (apertura-impedancia), en el que se basó toda una generación de estos analizadores.

Durante años, los principios utilizados se fueron perfeccionando para sumar a la etapa de los recuentos globales, la de la identificación de los tipos celulares o recuentos diferenciales.

Los analizadores hematológicos están diseñados para realizar hasta 28 determinaciones diferentes, entre las que se encuentran:

1. Hemoglobina.
2. Hematocrito.
3. Recuentos celulares globales.
4. Recuentos diferenciales absolutos y relativos.
5. Recuento de reticulocitos.

6. Constantes corpusculares y un conjunto de índices, entre los que se destacan la amplitud de la distribución de eritrocitos (RDW), que constituye una medida de la anisocitosis; la amplitud de la distribución de los trombocitos (PDW); las células grandes no coloreadas (LUC); el índice de lobularidad (LI), y el índice de la actividad peroxidásica promedio (MPXI).

Calidad: el conjunto de características y propiedades que atribuyen a una persona, cosa o acción que permiten calificarla, definirla y compararla con otra de su especie. Ejemplo: este pastel tiene mejor calidad que el del otro día.

Este laboratorio trabaja con mayor calidad que el aquel.

Garantía de la calidad: es el control sistemático del conjunto de actividades que se realizan en el laboratorio para garantizar la calidad del trabajo, destinados a mejorar la fiabilidad de los resultados, validar la calidad de las pruebas y reducir los costos.

Las medidas diagnósticas y terapéuticas que se toman en base a los análisis imponen al laboratorio una gran responsabilidad. Por tanto los resultados del laboratorio tienen que ser altamente confiables.

Sin embargo los análisis están sometidos a múltiples fuentes de errores, tanto evitables como inevitables, que en un conjunto determinan su calidad.

Frente a esta situación ya no es suficiente trabajar con cuidado sino que cada laboratorio necesita un sistema bien establecido y organizado para controlar

permanentemente la precisión y la exactitud de sus análisis de una manera objetiva.

Precisión: se define como la mejor concordancia entre los resultados de mediciones independientes, obtenidos mediante un procedimiento de medición (método analítico), bajo condiciones prescritas. Depende solo de la distribución de los errores aleatorios

del procedimiento de medición y constituye una medida de la reproducibilidad. No tiene expresión numérica.

De modo más simple, la precisión se refiere a la concordancia entre los valores obtenidos en determinaciones repetidas.

La **reproducibilidad** ofrece un mejor estimado de los errores aleatorios, pues, al prolongarse el período del estudio, se ofrece la oportunidad de que esté presente un mayor número de estos errores, como ocurre en el trabajo diario y que son fuentes de variación analítica.

El **error analítico aleatorio** se refiere a la imprecisión y puede ser negativo o positivo. Por lo general, su dirección y magnitud puede llegar a no conocerse, aunque siempre estará presente. Este tipo de error suele causar variaciones mínimas; pero, en ocasiones, esto puede cambiar de manera radical y convertirse en la causa de grandes variaciones. Estas se cuantifican mediante el cálculo de la media o promedio de todos los valores (\bar{X}), de la desviación estándar (s) y del coeficiente de variación (CV)

Exactitud o veracidad: se refiere a la concordancia entre el valor obtenido y el valor real de lo que se mide. Depende de la distribución de los errores sistemáticos.

El error **analítico sistemático** se refiere a la inexactitud y está siempre en una dirección por encima o por debajo del valor verdadero (figura 1.4). Este tipo de error tiene dos variantes: constante y proporcional.

El error **sistemático constante** tiene siempre igual magnitud, independientemente de la concentración del componente que se está midiendo.

El error **sistemático proporcional** constituye siempre el mismo porcentaje de la concentración del componente que se está midiendo, por lo cual, su magnitud aumenta a la par que la concentración.

El error sistemático, en cualquiera de sus variantes, da lugar a variaciones groseras en los resultados obtenidos. El estudio experimental de la inexactitud (errores sistemáticos), se realiza por medio de los estudios de recuperación, interferencias y el estudio comparativo entre el método objeto de la evaluación y un método de referencia (tablas 1.2 a 1.4, cuadros 1.1 y 1.2).

En resumen, los errores analíticos ocurren en cualquier momento y en cualquier etapa de un procedimiento analítico, aunque se cuente con un personal de experiencia y bien entrenado y se trabaje con las más modernas tecnologías.

¿Dónde empieza el control de calidad?

Comienza justamente con la indicación y preparación adecuada del paciente. El laboratorio es el responsable directo de seleccionar y utilizar bien el tipo y la cantidad de anticoagulantes y preservadores y de evitar la exposición de la muestra a condiciones ambientales adversas, tanto durante la recolección y transporte como durante el proceder analítico.

¿Qué es el control de calidad?

Son las técnicas operativas y actividades necesarias para cumplir con los requisitos de calidad y concierne el monitoreo diario de los procedimientos realizados en el laboratorio

Existen dos tipos de control de calidad: el interno y el externo.

Control de calidad interno. Se produce dentro de la unidad. Abarca las tres fases del proceso analítico.

Objetivos y características:

- Detección de errores en el trabajo diario del laboratorio, para inmediatamente resolverlos.
- Entrega de resultados confiables y con utilidad diagnóstica.

Control de calidad externo. Se produce en dos direcciones: de la unidad al laboratorio de referencia y viceversa.

Objetivos y característica

- Reducción de la variación de los resultados entre laboratorios de un área geográfica determinada, para lograr que los resultados de los análisis realizados en diferentes laboratorios sean comparables entre sí.
- Suministrar datos para la comparación entre los laboratorios participantes.
- Rendir cuentas sobre el desempeño analítico a autoridades en la atención de salud o cuerpos de acreditación.
- Mejorar la calidad y cooperar con los participantes en la detección de errores.
- Complementar los Programas de Aseguramiento Interno de la Calidad de los laboratorios participantes.
- Eliminar métodos imprecisos e inexactos cuyos resultados en las evaluaciones periódicas, son deficientes.
- Estimular a los laboratorios participantes para alcanzar una calidad analítica superior.

Resumiendo, es pertinente plantear que los errores analíticos ocurren en cualquier momento y en cualquier etapa de un procedimiento analítico aunque se cuente con personal de experiencia y bien entrenado y se trabaje con las más modernas tecnologías.

El aseguramiento de la calidad, en sus dos variantes: interno y externo, constituye un aliado insustituible de los analistas para conocer el comportamiento del desempeño diario, dentro y fuera del laboratorio.

El control de calidad en el trabajo del laboratorio abarca las tres fases que tiene el proceso:

Fase preanalítica:

Se denomina fase preanalítica a la etapa previa a la realización de un análisis de laboratorio. Esta etapa incluye la preparación del paciente, la confección de la solicitud de análisis y los cuidados para la obtención de las muestras. La atención que el médico de asistencia y el personal del laboratorio concedan a

esta fase determinará, en gran medida, la calidad de los resultados que se van a obtener.

Factores que inciden durante esta fase,

Los objetivos de las normas de control de la calidad en la fase preanalítica son, fundamentalmente tres:

1- La correcta identificación de paciente, solicitante y pruebas solicitadas:

Aunque el primer objetivo parezca obvio, también son evidentes las consecuencias de un error a este nivel. Para cumplimentar esta área debemos disponer de un formato de petición específico, en el que, aparte de su nombre y apellidos, se identificará de forma inequívoca a cada paciente mediante su número de historia u otro dato numérico, (dos pacientes pueden tener iguales nombre y apellidos), así como al facultativo solicitante.

2- Reducir al máximo la variabilidad intraindividual de los parámetros a medir:

La variabilidad intraindividual de cualquier parámetro a medir no puede ser eliminada totalmente, ya que el paciente es un ser vivo, pero se puede minimizar si controlamos las causas endógenas y exógenas que la incrementan.

Entre las causas endógenas la principal son los ciclos hormonales (ritmos circadianos) que modifican los niveles de un parámetro a lo largo del día. Especial importancia tiene este factor en el estudio de los componentes del sistema fibrinolítico. Habitualmente realizaremos la extracción del espécimen en las primeras horas de la mañana y recordaremos la importancia de este punto cuando, por conveniencia administrativa, se plantee la posibilidad de varios horarios de extracción a lo largo del día.

Las causas exógenas incluyen principalmente el ejercicio físico, especialmente importante cuando vamos a medir reactantes, como factor VIII o factor Von Willebrand, y la ingestión de alimentos que, a la vez, puede representar una interferencia en la fase analítica por enturbiar en plasma.

3- Evitar el deterioro del espécimen a través de los procesos de obtención, manipulación, transporte y conservación: En cuanto a la obtención de la muestra es importante recordar: No prolongar excesivamente la aplicación del torniquete. El ideal es no mantenerlo más de un minuto y utilizarlo para la punción venosa pero no durante la toma de la sangre.

Los tubos destinados a las pruebas de coagulación deben llenarse antes de los destinados a otras pruebas. Una excepción sería la determinación del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) en pacientes tratados con heparina, que es un 20% más corto en el primer tubo que en el segundo.

Los tubos destinados a estudios de coagulación deben obtenerse por punción venosa, no aprovechando catéteres posiblemente contaminados con heparina

Por último, cuando sea necesario el transporte del tubo desde el centro de extracción hasta el laboratorio, se evitarán la agitación brusca, que puede provocar hemólisis y las temperaturas elevadas. También se tendrán en cuenta los plazos de conservación antes señalados.

Fase analítica.

La fase analítica se desarrolla en el interior del propio laboratorio clínico. La selección, aplicación y evaluación de los diferentes procederes analíticos constituyen el factor fundamental que, como un marcador ultrasensible, se hace necesario revisar siempre, cuando se trata de conocer la calidad con que se desempeñan los laboratorios.

La garantía de calidad en la fase analítica está dirigida a reducir la imprecisión o error aleatorio y la inexactitud o error sistemático de las determinaciones. Los términos imprecisión e inexactitud no son en absoluto equivalentes.

El control de la calidad en la fase analítica se utiliza con el principal objetivo de mantener una vigilancia constante para detectar a tiempo los errores que pueden afectar la calidad de los resultados. Hoy día, el control de la calidad constituye una herramienta indispensable en el laboratorio clínico para alcanzar la excelencia en el trabajo.

La imprecisión o error aleatorio representa el grado de discordancia entre medidas repetitivas de un mismo espécimen, con independencia de su proximidad al valor verdadero. Para luchar contra ella utilizaremos métodos analíticos, aparatos y reactivos de calidad contrastada y se cuidarán los aspectos técnicos del proceso analítico. Para valorar su magnitud utilizaremos el control de la calidad interno.

La inexactitud o error sistemático es el grado de discordancia entre nuestro resultado y el valor verdadero. Para prevenirla o reducirla se requiere una

correcta calibración de la técnica. Su importancia se valora mediante los programas de evaluación externa de la calidad.

Fase post analítica.

Se considera fase posanalítica a la etapa en que se confirman los resultados y el laboratorio redacta un informe. En este debe constar la interpretación, por parte del médico de asistencia, de los datos obtenidos, la evaluación del tiempo total que duró la obtención (*turn-around-time*) y la confidencialidad que se mantuvo.

Se denomina inesperado un resultado que contradiga la información previa sobre el paciente. Por tanto, debe ser confirmado lo mismo si se encuentra dentro de los intervalos de referencia como fuera de ellos.

En cuanto a la correcta interpretación de los resultados, es imprescindible tener en cuenta las unidades en que se expresan y el intervalo de referencia para estas unidades, la sensibilidad y especificidad nosográficas y el valor predictivo del parámetro que se analice. Por último, el tiempo total invertido en la realización de un análisis es un aspecto al cual se le presta cada vez mayor atención y constituye una medida de la eficiencia de un laboratorio.

Los elementos más importantes son la ausencia de demora en la entrega del resultado y la calidad informativa del formato de éste, tanto para el paciente como para otros facultativos que puedan atenderle. Otro punto importante es disponer de un sistema de almacenamiento adecuado.

Mejoría continua de la calidad (MCC): Filosofía y Manejo

Mejoría continua de la calidad: se refiere tanto a una filosofía como a un sistema de manejo. No desecha los métodos tradicionales de control y garantía de calidad del laboratorio, sino que se trata de una extensión de esas actividades y requiere de un nuevo enfoque y una ampliación de actividades en la organización en la búsqueda de la calidad. La **MCC** son aquellas acciones necesarias para aumentar la efectividad y la eficacia de la estructura, el proceso y los resultados mencionados anteriormente. La meta es proporcionar beneficios añadidos a la organización para beneficio de los usuarios.

Filosofía

En el núcleo de la mejoría continua de calidad existen tres elementos:

- La modificación de los sistemas y procesos en los que funcionamos es más efectiva para cambiar nuestro comportamiento que el intento de modificar a las personas.
- La consulta y el apoyo conducen al progreso, mientras que poner reglas y hacer que se cumplan es menos efectivo.
- La identificación y la mejoría de aquellos procesos que influyen significativamente sobre el resultado.

Representa un cambio representativo de lo que Berwick llamó " la teoría de la manzana podrida ". Esta teoría sostenía que los errores son producto de la mala fe o de la incompetencia de las personas. El enfoque de la MCC acepta que los errores son hechos propios de la vida y que son parte de nuestros sistemas y procesos. En lugar de identificar y desechar a ofensores individuales, la MCC apunta a comprender y modificar los sistemas y procesos mismos. La cooperación y participación sustituirá la justificación, la negación y el encubrimiento. En lugar de intentar culpar y controlar, la nueva meta es la de educar, informar, apoyar. El objetivo es la excelencia y la MCC, no el énfasis sobre la incompetencia. Los usuarios y los proveedores del laboratorio se convierten en socios y dejan de ser problemas.

Manejo

Se refiere al enfoque de la calidad dentro del laboratorio y de la organización en la que éste funciona. Incluye todas las actividades que determinan el conjunto de intenciones, dirección, objetivos y responsabilidades junto con los medios para su implementación. Incluye la evaluación de la calidad y a la MCC.

Manual de normas y procedimientos.

Documento de gran importancia que facilita la garantía de la calidad en el laboratorio ya que describe la marcha técnica, fundamentación, método, reactivos, preparación de los reactivos, conservación y estabilidad de los mismos, obtención y preparación de las muestras, valores de referencia de los diferentes procedimientos que se realizan en los laboratorios.

Control de equipos e instrumentos.

Describe las instrucciones para la operación, las precauciones de seguridad, los daños potenciales y un programa preventivo de mantenimiento. El manual debe detallar también los procedimientos a seguir para la calibración de los

nuevos equipos y de aquellos que han sido reparados recientemente, información sobre la frecuencia con que el equipo debe ser calibrado y la extensión de los métodos de recalibración.

Bibliografía

- González-Alfaro J., Barreal, RT, González, Boris. Laboratorio de Microbiología. Instrumentación y Principios Básicos. La Habana, Ed Ciencias Médicas, 2004.
- Selección de temas para la formación del Técnico de Laboratorio Clínico.
- Colina J, et al. Laboratorio, La Habana, Ed Pueblo y Educación, 1989, Tomo 1
- Suardíaz J, Cruz C, Colina A. Laboratorio clínico. La Habana, Ed Ciencias Médicas, 2007.
- Llop A, Valdés Dapena M, Zuazo JL, Microbiología y Parasitología Medica, La Habana, Ed Ciencias Médicas, 2008. Tomos I y III.
- Rodiles HC, Campanón JE, Laza C. Citohistopatología. Procedimientos básicos. La Habana, Ed Ciencias Médicas. 2008.